

Szakdolgozat

Makkai Enikő

2021

Állatorvostudományi Egyetem
Ökológia Tanszék

**A hepatitis E vírus élelmiszer-biztonsági jelentőségének vizsgálata
PCR és ELISA módszerrel állati eredetű élelmiszerekben**

Készítette: Makkai Enikő
biológia BSc szak, III. évfolyam

Témavezető: Dr. Forgách Petra
ÁTE, Járványtani és Mikrobiológia Tanszék, egyetemi adjunktus

Budapest, 2021

Tartalom

1. Rövidítések jegyzéke	4
2. Bevezetés	5
2.1 A vírus felfedezése	6
2.2 A vírus szerkezete.....	7
2.3 Taxonómia	8
2.4 A vírus patogenezise, humán klinikai megnyilvánulása.....	10
2.5 Szeroprevalencia.....	11
2.6 Vírus előfordulása állatokban és élelmiszerekben.....	11
3. Célkitűzések.....	13
4. Anyag és módszer	14
4.1 Mintagyűjtés	14
4.2 Mintafeldolgozás	15
4.3 Nukleinsav kivonás.....	16
4.4 qRT-PCR	16
4.5 ELISA.....	17
5. Eredmények	19
5.1 Real-Time qRT-PCR	19
5.2 ELISA eredmények	20
6. Diskusszió	22
6.1 qRT-PCR vizsgálatok	23
6.2 ELISA vizsgálatok.....	25
6.3 További célok	28
7. Összefoglalás	29
8. Abstract	30
9. Irodalom.....	31
10. Köszönetnyilvánítás	36
11. Mellékletek.....	37
12. Nyilatkozat	53

1. Rövidítések jegyzéke

B	intestine	bél
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	enzimhez kapcsolt immunoszorbens vizsgálat
HEV	hepatitis E virus	hepatitis E vírus
ICTV	International Committee on Taxonomy of Viruses	Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság
J	juice	húslé
ORF	open reading frame	nyílt leolvasási keret
PBS	phosphate buffered saline	foszfátsókkal pufferolt fiziológias sóoldat
qRT-PCR	quantitative (real-time) reverse transcription-polymerase chain reaction	kvantitatív (valós idejű) reverz transzkripció polimeráz láncreakció
RNS	ribonucleic acid	ribonukleinsav
T	stuffing	töltelék

2. Bevezetés

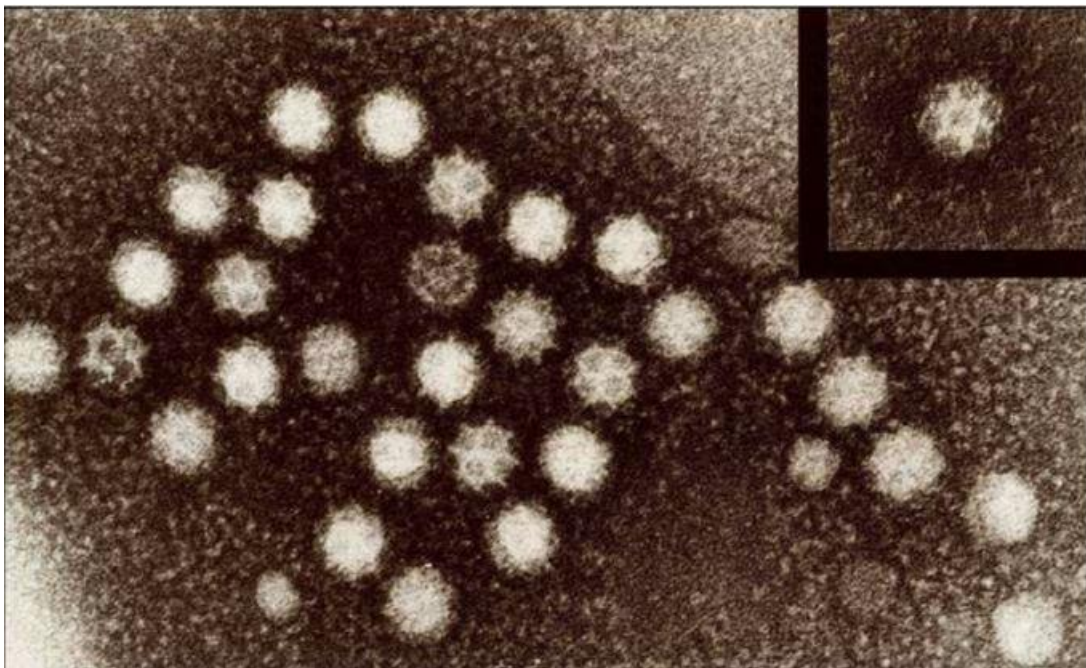
A hepatitis E vírus (HEV) egy fekális-orális úton terjedő kórokozó, ami emberekben okozhat klinikai tünetekkel járó, esetenként fatális kimenetelű, heveny májgyulladást. Jelentőségét mutatja, hogy évente átlagosan 20 millió fertőzés fordul elő világszerte (WHO). A vírus egyes genotípusai csak embereket fertőznek, míg más genotípusokba tartozó törzsek zoonotikusak, tehát állatról emberre képesek áterjedni (Kantala és mtsai., 2018; Smith és mtsai., 2020). A zoonotikus genotípusok legfőbb rezervoár fajai közé tartozik a sertés, a vaddisznó, a szarvas és a nyúl, valamint nemrégiben patkány-eredetű törzsek okozta emberi fertőzést is feljegyeztek (Murphy és mtsai., 2019; Reuter és mtsai., 2020). Állatokban a fertőzés tünetmentesen zajlik le.

Az enterálisan terjedő hepatitiszes megbetegedésekért leggyakrabban a HEV tehető felelőssé, így a vírus előfordulása ma már világszerte fontos közegészségügyi probléma. A fejlődő országokban a kórokozó elsősorban bélsárral kontaminált víz útján terjed és okoz járványos megbetegedéseket, míg Európában vélhetően zoonotikus úton terjed a betegség a fertőzött állatokkal való közvetlen érintkezés, valamint az állatok vitális fertőzése következtében fertőzőképes vírusrészecskét tartalmazó hús és feldolgozott hústermékek fogyasztása révén. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) az egyre növekvő esetszámok miatt élelmiszer-biztonsági szempontból „nem elhanyagolhatónak” titulálta a vírust (EFSA, BIOHAZ, 2011), ennek ellenére a jelenleg hatályos élelmiszerek mikrobiológiai kritériumaira vonatkozó jogszabályok (2073/2005/EK, 853/2004/EK, 854/2004/EK rendeletek) nem nevesítik a hepatitis E vírust (EFSA 2017). Ez nem csak azért probléma, mert a vitális fertőzés miatt a HEV jelenléte független az élelmiszerek jogszabály által elfogadhatatlannak minősített fekális szennyezettségétől, hanem azért is, mert vonatkozó jogszabály hiányában a megelőző járványügyi intézkedés és az állatok fertőzéstől való mentességének előírása nem lehetséges, valamint az élelmiszerek biztonságosságának vizsgálata csak kutatás formájában valósítható meg. Az élelmiszereket hivatalosan nem szűrik a HEV jelenlétére.

A vírus jelenléte Magyarországon 2004 óta ismert, nem csak emberi esetek, hanem a kórokozó és a fertőzöttség sertésben, vaddisznóban, őzben és szarvasban való kimutatása révén. A jelen dolgozat része a HEV állatokban való előfordulását, járványtanát és élelmiszer-biztonsági jelentőségét célzó magyarországi vizsgálatoknak.

2.1 A vírus felfedezése

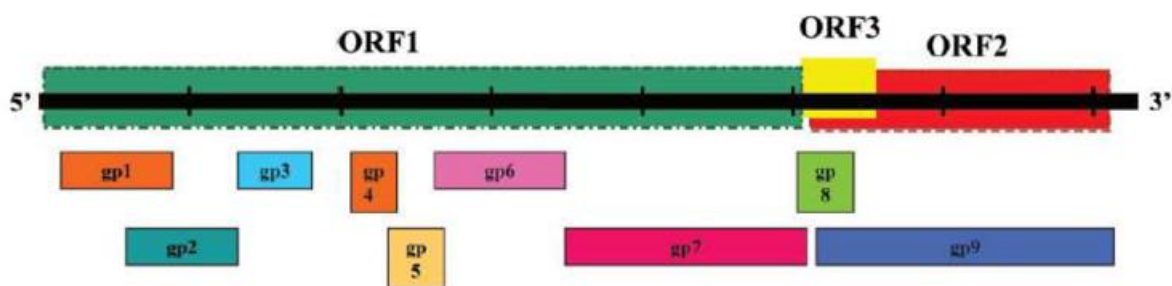
Az első, laboratóriumi vizsgálatokkal utólag igazolt hepatitis E járványt 1957-ben jegyezték fel, amikor Indiában (New Delhi) 29 ezren betegedtek meg kontaminált víz fogyasztása következtében. Ekkor azonban, a hasonló járványtani tulajdonságok, azaz a fekális-orális úton terjedés és halmozott esetek alapján még hepatitis A-nak tulajdonították a fertőzést (Wang és mtsai., 2016). Hasonló járványkitörésekről számoltak be később Nepálban (Kane és mtsai., 1984), Pakisztánban (De Cock és mtsai., 1987), Mexikóban (Centers for disease control, 1987) és Kínában (Zhuang, 1991) is. A szembetűnő különbség, ami gyanakodásra adott okot, hogy a megbetegedések nem hepatitis A fertőzésre vezethetők vissza, az volt, hogy a fenti járványokban a terhes nők körében szokatlanul magas, a HAV fertőzésre nem jellemző halálozási arányt (20 %) figyeltek meg (Wang és mtsai, 2016). A kórokozót előbb ET-NANB (enterális úton terjedő non-A, non-B) vírusként kezdték emlegetni, s csak később, 1983-ban vérsavó minták elektronmikroszkópos vizsgálata révén igazolták, hogy a megbetegedések hátterében egy egészen új kórokozó állt, amit enterális terjedése miatt Hepatitis E vírusnak neveztek el (Balayan és mtsai., 1983). A vírust először egy májgyulladásban szenvedő beteg székletmintájával mesterségesen fertőzött önkéntes székletéből mutatták ki, immun-elektronmikroszkópos vizsgálattal (1. ábra).



1. ábra: HEV elektronmikroszkópos képe. Forrás: Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium <http://www.kuleuven.ac.be/regamvr/pictures/HepatitisE-1.jpg>

2.2 A vírus szerkezete

A HEV egy 32-34 nm átmérőjű, ikozaéder szimmetriájú kapsziddal rendelkező, burok nélküli vírus. A vírus genom (**2. ábra**), mely 7.2 kb hosszúságú, pozitív irányítottágú, szimpla szálú RNS, három nyitott leolvasási keretet (open reading frame, ORF) kódol (LeDesma és mtsai., 2019). Az 5' véghez közelebb található egy körülbelül 26 nukleotidból álló nem kódoló régió. Ezt követi az ORF1, ami kb. 5100 nukleotid hosszúságú és nem strukturális fehérjéket kódol (5'-3' sorrendben: metil-transzferáz, Y-domén, papain-szerű cisztein proteáz, hinge domén, X-domén, RNS-helikáz, RNS-polimeráz), melyek a vírusreplikációhoz szükségesek (Emerson és Purcell, 2003; Sridhar és mtsai., 2015). Ez a szakasz a teljes genom hosszának kb. 2/3-át foglalja el. Az ORF2 a 3' véghez közelebb található, kb. 1980 nukleotid hosszúságú és a kapszid fehérjét kódolja (Purcell és mtsai., 2001; Emerson és Purcell, 2003). Ennek a szakasznak a vírus sejtbe bejutásában és az ellenanyagok semlegesítésében van szerepe (Sridhar és mtsai., 2015). Az ORF3 átfedésben található az ORF1 és ORF2 régiókkal. Ez a legrövidebb szakasz a 3 leolvasási keret közül, mindössze 114-123 nukleotid hosszúsággal. Egy erősen bázikus és immunogén fehérjét kódol, aminek szerepe még tisztázatlan. A 3' véghez közelebb szintén egy rövid (60 nukleotid) nemkódoló régió és egy változatos hosszúságú poli-A-farok található (Emerson és Purcell, 2003). Az eddig részletezett genomszerkezet a HEV-4 genotípus esetében eltérést mutat, mivel ott az ORF3 csak az ORF2-vel fed át (Wang és mtsai., 2000).



2. ábra: HEV genomszerkezete. Kódolt fehérjék: gp1, gp2: metil-transzferáz, gp3: papain-szerű cisztein proteáz, gp4: polyproline hinge-domén, gp5: ADP ribose binding protein, gp6: RNS helikáz, gp7: RNS polimeráz, gp8: feltételezett kapszid protein, gp9: struktúrfehérjék (Forrás: Dr. Forgách Petra)

2.3 Taxonómia

A HEV-et korábban a *Caliciviridae* családhoz sorolták, de a génszerkezetének részletesebb megismerése alapján 2009-ben a Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) az újonnan létrehozott *Hepeviridae* családba sorolta át (ICTV, 2015, Wang és mtsai., 2016). A víruscsalád taxonómiai részleteit az **1. táblázat** foglalja össze.

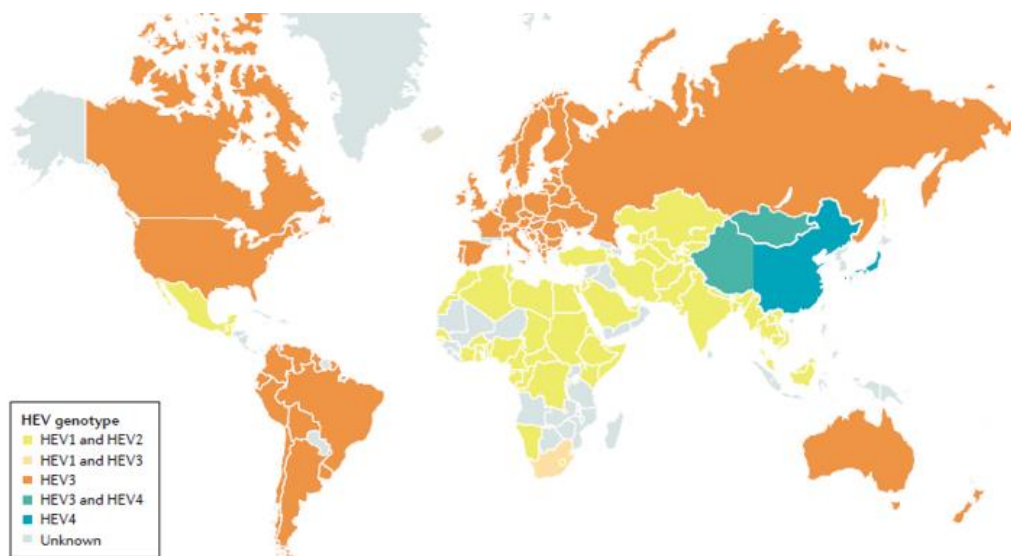
1. táblázat: A hepatitis E vírus taxonómiai összefoglalása. A zoonotikus genotípusok félkövérrel jelölve

Család	Nemzetség	Faj	Genotípus	Gazdafajok
<i>Hepeviridae</i>	<i>Orthohepevirus</i>	<i>Orthohepevirus A</i>	HEV-1	ember
			HEV-2	ember
			HEV-3	ember, sertés, vaddisznó, nyúl, szarvas, indiai menyét
			HEV-4	ember, sertés
			HEV-5	vaddisznó
			HEV-6	vaddisznó
			HEV-7	egypúpú teve
			HEV-8	kétpúpú teve
		<i>Orthohepevirus B</i>		házityúk
		<i>Orthohepevirus C</i>	HEV-C1	patkány, ember
			HEV-C2	vadászmenyét
		<i>Orthohepevirus D</i>		denevér
	<i>Piscihepevirus</i>	<i>Piscihepevirus A</i>		pisztráng

A *Hepeviridae* két nemzetségre különíthető el: Az *Orthohepevirus* genus emberből és szárazföldi állatokból, míg a *Piscihepevirus* nemzetség halakból kimutatott vírusokat foglal magába. Az *Orthohepevirus* nemzetségen belül további 4 fajt különböztetünk meg, amiket *Orthohepevirus A-D*-ig neveztek el. A *Piscihepevirus* genusba egyetlen faj a *Piscihepevirus A* tartozik. Az *Orthohepevirus A* fajon belül eddig összesen 8 genotípust és számos altípust

különítették el, melyek közül a HEV-1 és HEV-2 csak embereket, a HEV-3 és HEV-4 állatokat és embereket is fertőz, így felelősek a zoonotikus megbetegedésekért, míg a HEV-5-8 genotípusokat egyelőre csak állati eredetű mintákból (vaddisznó és teve fajok) mutatták ki (Doceul és mtsai., 2016; Wang és mtsai., 2016). Az *Orthohepevirus B* madarakban okoz lép- és májmegnagyobbodással járó megbetegedést. Az *Orthohepevirus C* elsősorban patkányokat és vadászmenyétéket fertőz, azonban ezek a törzsek az utóbbi években emberek patkány-eredetű fertőzésében szerepet játszottak (Murphy és mtsai., 2019; Reuter és mtsai., 2020). Az *Orthohepevirus D* fajba denevéreket fertőző törzseket sorolnak (Khuroo és mtsai., 2016). A dolgozatomban továbbiakban az *Orthohepevirus A* fajon belül a zoonotikus genotípusokkal foglalkozom.

Földrajzi szempontból az országokat „endémiás” és „nem endémiás” kategóriába sorolják a fertőzés klinikai megnyilvánulása és szeropozitivitása alapján. Endemikusnak tekinthető egy fertőzés azokon a területeken, ahol jellemző egy kórokozó járványos előfordulása, valamint a szeroprevalencia meghaladja a 15%-ot. A HEV eszerint endémiásnak tekinthető Ázsia egyes részein (Dél-Ázsia, Közép-Ázsia, Délkelet-Ázsia), Afrikában, Mexikóban és a Közel-Keleten (Kamar és mtsai., 2017). Ezekben a fejlődő országokban a HEV-1 és HEV-2 genotípusba tartozó vírustörzsek fordulnak elő és okoznak járványszerű kitöréseket szennyezett ivóvíz terjedésével. Eredetileg a „nem endémiásnak” tekinthető fejlődő országokban (Európa, USA, Ausztrália), ahol a vírus sporadikus megjelenése volt jellemző, mára megkérdőjeleződött, hiszen ezeken a területeken is jelentősen nőtt és folyamatosan növekszik a szeroprevalencia (Wallace és mtsai., 2019). Ezeken a területeken jellemzően a HEV-3 és HEV-4 genotípusú vírustörzsek fordulnak elő. A **3. ábrán** látható a HEV genotípusainak földrajzi elterjedése.



3. ábra: HEV genotípusainak földrajzi elterjedése (Kamar és mtsai., 2017)

2.4 A vírus patogenezise, humán klinikai megnyilvánulása

A szövettanyészeten citopatogén hatást nem okozó HEV által okozott fertőzés patogenezise nem teljesen ismert (Tanaka és mtsai., 2007). A fertőzés fekális-orális úton terjed elsősorban bélsárral és ezzel szennyezett vízzel, kontaminált növényi eredetű, vagy fertőzött állatokból származó élelmiszerekkel, valamint transzfúzió útján (Kamar és mtsai., 2017). Feltételezhető, hogy extrahepatikusan már bélben elkezdődhet a vírus replikációja, azonban nem teljesen tisztázott, hogyan éri el a májat. A vírus replikációja legfőképp a májsejtekben történik (Lhomme és mtsai., 2016). A képződött vírusrészecskék a bélbe az epe kiválasztásával jutnak el, majd széklettel ürülnek. A fertőzést követő inkubációs periódus 3-8 hétig tarthat, ami alatt már megfigyelhető a viraemia, illetve a vírus széklettel történő ürítése. A klinikai tünetek a fertőzést követő 5-6. héten jelennek meg és néhány naptól kezdve hetekig is eltarthatnak (Hoffnagle és mtsai., 2012). A tünetek súlyossága egyénenként eltérő lehet a felvett vírus mennyiségétől, valamint a beteg egészségi állapotától függően. A legjellemzőbb tünetek közé tartozik a láz, hányinger, hányás, fáradékonyság, hasi fájdalom. Súlyosabb esetben megjelenhetnek a májelégtelenségre jellemzőbb tünetek is, mint sárgaság, hypochrom széklet, sötét színű vizelet, nyomásérzékenység (Kamar és Pischke, 2018). Sokakban tünetmentesen zajlik le a fertőzés, a halálozási arány átlagosan 4 % alatt van (Dalton és mtsai., 2008). A harmadik trimeszterben lévő terhes nők esetén ez a halálozási ráta 25 %-ra emelkedhet, mivel csökken a máj endotoxin semlegesítő képessége (Dalton és mtsai., 2008; Himmelsbach és mtsai., 2018). A halál oka jellemzően májelégtelenség vagy eclampsia (Lhomme és mtsai.,

2016). A klinikai hepatitis E akut jellegű, jellemző tünete az 1-4 hétig tartó májgyulladás. A súlyosabb krónikus formája a betegségnek jellemzően idősebb vagy valamilyen okból (transzplantáció, kemoterápiás kezelés, HIV fertőzés) immunszupresszált emberek esetében alakulhat ki.

2.5 Szeroprevalencia

A zoonotikus megbetegedéseket, tehát állatról emberre történő fertőzés terjedését HEV-3-4 genotípusú vírustörzsek okozzák. A „nem endémiás” területeken a viszonylag nagymértékű szeropozitivitási arány indokolta az élelmiszer-termelő állatokban a vírus előfordulásának vizsgálatát. Több európai országban (Norvégia, Németország, Olaszország) is végeztek kutatást annak felmérésére, hogy a HEV szeroprevalenciát emberekben és sertésekben megvizsgálják (Krumbolz és mtsai., 2013; Ponterio és mtsai., 2014; Lange és mtsai., 2016). A szerológiai vizsgálatokhoz vérmintákat gyűjtöttek két mintavételi csoportból. Az egyik csoportba tartoztak, akik sertésekkel dolgoztak/érintkeztek (farm munkások, állatorvosok), a másik csoportba pedig azok akik egyáltalán nem találkoztak az állatokkal. Az eredmények minden esetben igazolták, hogy a sertésekkel foglalkozó emberek körében kétszer olyan magas volt a szeropozitivitási arány, mint a az állatokkal nem érintkező vizsgálati csoportban. Összehasonlítva a sertésekből izolált HEV genomszekvenciáját a vizsgálatban részt vett emberekből kimutatott vírus genomszekvenciájával, bebizonyosodott, hogy a fertőződés zoonózis útján történt. Ugyanakkor azok között is előfordult a vírusfertőzés, akik csak sertés eredetű élelmiszerekkel érintkeztek, az állatokkal közvetlenül nem. Ezen és hasonló eredmények következtében egyre több országban kezdték el vizsgálni a fertőzésre fogékony állatok húsát tartalmazó élelmiszereket hepatitis E vírus jelenlétére.

2.6 Vírus előfordulása állatokban és élelmiszerekben

Mivel korábban a betegség legfőbb rezervoár állatának a sertést tekintették, illetve az emberek átlagosan több sertéshúst fogyasztanak, így a felmérések során többségében sertéseredetű élelmiszereket vizsgáltak. Az egyre több elvégzett vírusnukleinsav-kimutató vizsgálatok eredményei alapján viszont bebizonyosodott, hogy a fertőzésre fogékony állatfajok száma tovább bővült. Sikeresen izolálták eddig a kórokozót házi sertésekből, vaddisznókból, szarvasokból, őzekből és nyulakból egyaránt (Forgách és mtsai., 2010b; Doceul és mtsai., 2016; Abravanel és mtsai., 2017; Spancerniene és mtsai., 2018; Takova és mtsai., 2020). Állatok

esetében a fertőzés tünetmentes, ezáltal a vágóhidra olyan állatok is kerülhetnek, melyekben aktív vírusszaporodás és -ürítés zajlik (EFSA 2017). A fertőzött állatok vágóhídi húsvizsgálat útján sem szűrhetők ki, a vírus kimutatása csak laboratóriumi módszerekkel lehetséges.

A HEV-vel foglalkozó kutatócsoportok munkája révén egyre szélesebb körben vizsgált élelmiszertermékek között sikerült izolálni a vírus nukleinsavát. Több európai ország vizsgálta az emberi fogyasztásra szánt élelmiszerekben (legfőképpen máj) a HEV előfordulási arányát. Az eredményeket összesítve 0-47 % között detektálták ezekben a hús, illetve húskészítményekben a vírus jelenlétét (Pavio és mtsai., 2017). A HEV nukleinsavának kimutatása önmagában azonban nem jelenti, hogy a termékben jelenlévő vírus fertőzőképes. Ezt állatkísérletekkel vagy sejtenyészeten végzett kísérletekkel lehetne igazolni. Az előbbi idő- és költségigényes, valamint állatvédelmi szempontokból vitatható, szövettenyészetten azonban egyelőre kevés kutatócsoportnak sikerült izolálni és szaporítani a vírust (Meister és mtsai., 2019; Fu és mtsai., 2019; Todt és mtsai., 2020).

3. Célkitűzések

Az enterálisan terjedő hepatitiszes megbetegedésekért leggyakrabban a HEV tehető felelőssé, így ma már világszerte fontos közegészségügyi probléma. Az elmúlt évtizedben jelentősen megnövekedett a vírus jelenléte egész Európában (Aspinall és mtsai., 2017). Sokáig úgy gondolták, hogy a HEV csak a fejlődő országokban fordul elő (Ázsia bizonyos részei, Afrika) endemikusan, azonban ma már tudjuk, hogy endemikusnak tekinthető sok európai országban, illetve az Egyesült Államokban is (Kamar és mtsai., 2017). A fejlődő országokban a kórokozó elsősorban bélsárral kontaminált víz útján terjed és okoz járványos megbetegedéseket, míg Európában vélhetően zoonotikus úton terjed a betegség a fertőzött állatokkal való érintkezés, valamint ilyen típusú hús és feldolgozott hústermékek fogyasztása révén. Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) az egyre növekvő esetszámok miatt „nem elhanyagolhatónak” titulálta a HEV jelenlétét élelmiszer-biztonsági szempontból (EFSA, BIOHAZ, 2011). Magyarországon 2004 és 2006 között végezett kutatás során, sikerült kimutatni a vírus jelenlétét sertésben, vaddisznóban, őzben és szavasban. Megállapították továbbá azt is, hogy az állatokból kimutatott vírus genetikai anyaga jelentős mértékben megegyezik az emberből kimutatott vírustörzsekével (Forgách és mtsai., 2010b).

Kutatásunk célja elsősorban a magyarországi kereskedelmi forgalomban kapható, a fertőzésre fogékony fajokból származó élelmiszerekben a HEV jelenlétének felmérése volt. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy ezek a termékek szerepet játszhatnak-e a fertőzés zoonotikus közvetítésében és így az esetszámok növekedésében. A vírus jelenlétét az élelmiszerek eredetéről szolgáló állattartó telepeken szerológiai vizsgálatokkal kívántuk igazolni.

4. Anyag és módszer

4.1 Mintagyűjtés

A kutatásunk elsődleges célja a hepatitis E vírus jelenlétének élelmiszerbiztonsági szempontból történő felmérése volt. Ehhez kereskedelmi forgalomban kapható, többségében sertés eredetű húst, illetve nyers, hőkezelés nélkül forgalmazott húskészítményeket vásároltunk. A minták között a kiskereskedelmi egységekben való elérhetőségük függvényében nyúl, vaddisznó és szarvas húst is megvizsgáltunk, mivel a szakirodalmi adatok és a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszéken folytatott korábbi vizsgálatok eredményei alapján ezek az állatfajok is fogékonyak a fertőzésre, valamint humán klinikai eseteket is kapcsoltak nyúl-, vaddisznó- és szarvashús fogyasztásához (Li és mtsai., 2005; Choi és mtsai., 2013; Abravanel és mtsai., 2017; Sahli és mtsai., 2019). Összesen 110 élelmiszert dolgoztunk fel a kutatásunkhoz, melyeket esetenként almintákra (egy csomagoláson belül többféle húskészítmény, felismerhetően több állatból származó máj, töltelék és bél, juice) bontva vizsgáltunk (2.táblázat). A minták adatait összefoglaló teljes adattábla mellékletként a dolgozat végén található.

2. táblázat: Élelmiszerminták típus szerinti csoportosítása

kategória	tartalma	állatfaji eredet	mintaszám
disznótoros és griller	sütnivaló kolbász, hurka, véres hurka, csevapescicsi, húsgolyó, hamburgerhús	sertés	103
érlelt húskészítmény	szalámi, kolbász, sonka, szendvicsfeltét, stb.	sertés	25
bacon és szalonna	szeletelt/kockázott, pácolt bacon, szalonna	sertés	15
előkészített hús	pácolt karaj, tarja, csülök, stb,	sertés	10
darált hús	zsírtartalom: 7-30%	sertés	22
natúr hús	szeletelt hús, gulyáshús, pörkölt hús	sertés, szarvas vaddisznó,	18
máj	pultból/csomagolt	sertés, nyúl	16

4.2 Mintafeldolgozás

A kiskereskedelmi egységekből beszerzett mintákat típusuktól függően dolgoztuk fel. A nyers, fűszerezés nélküli vagy pácolt húskészítményekből, amennyiben egybefüggő húsrész volt, több helyről, ha több (pl. szeletelt) húsrész volt, mindegyik szeletből arányos méretű darabot vágunk ki, összesen 10 g mintát gyűjtve az adott termékből. A termékekből a tárolás során kiszivárgó húslét („juice minta”) a csomagolás felnyitását megelőzően steril fecskendő és tű segítségével összegyűjtöttük a csomagolásból, a vírus ellen képződött ellenanyagok kimutatására.

A töltelékes húskészítmények esetében külön gyűjtöttük és kezeltük a fogyasztásra alkalmas bél és töltelék mintákat annak felderítésére, hogy a vírus a töltelékot alkotó húsban és/vagy a bélben mutatható-e ki. Amennyiben több típusú húskészítmény (pl. kolbász, hurka, véres hurka) volt ugyanazon csomagoláson belül, mindegyik típust külön kezeltük. Mindegyik termékből kb. 10 g darabot és az ezt fedő bélrészletet különítettük el a vizsgálathoz. Ha látható volt kiszivárgott húslé a csomagoláson belül, azt a csomagolás felnyitása előtt steril fecskendő és tű segítségével összegyűjtöttük a csomagolásból, a vírus ellen képződött ellenanyagok kimutatására.

A mintákat külön mintagyűjtő téglékben tároltuk -80 °C-on, amíg feldolgozásra nem kerültek. A felolvasztás után a minták homogenizálásához nagyobb mintarészek (hús, töltelék) esetében dörzsmozsarat és kvarchomokot, illetve 1:10 arányú hígításhoz antibiotikum-tartalmú PBS-t használtunk, míg a bélminták feltárását golyós homogenizátorral végeztük kb. 1 ml antibiotikumos PBS hozzáadásával. A homogenizált mintákat ezt követően 6000 x g gyorsuláson centrifugáltuk a nagyobb törmelékek és a felülúszó elkülönítésére.

4.3 Nukleinsav kivonás

Centrifugálás után pipettával mindegyik mintából 1 ml felülúszót mértünk át 1.5 ml-es mikrocentrifuga csövekbe. A nukleinsav kivonásához a QIAamp Viral RNA Mini Kit-et (Qiagen, Németország, Cat. No./ID: 52906) használtuk. A felülúszóból 140 µl-t mértünk át az AVL Buffer oldatba, melyben előzetesen a hűtőben tárolás során kialakult kristályokat thermomixerben 60 °C-ra melegítéssel oldottuk fel. Az AVL Buffer egy lízis puffer, amely virális kapszidok roncsolásával a nukleinsav kiszabadítására alkalmas. A 10 perc szobahőmérsékleten történő inkubáció letelte után 560 µl etanolt pipettáztunk az mikrocentrifuga csövekbe, majd vortexszel összekevertük. Szűrővel ellátott csövekbe (Mini Spin Column) az elegyek felét (~630 µl) átmértük, majd 1 percig 6000 x g gyorsuláson centrifugáltuk a mintákat. Ezt megismételtük a megmaradt elegy hozzáadása után, így a nukleinsavakat hozzákötöttük a szűrőn lévő szilikagélhez. Következő lépésként 500 µl Buffer AW1 mosóoldatot mértünk a filteres mikrocentrifuga csövekre, amit újabb 1 percig tartó centrifugálás követett 6000 x g gyorsuláson. Ezt követően a Buffer AW2 oldatból 500 µl-t mértünk a mintákra, majd 3 percen keresztül 20.000 x g gyorsuláson centrifugáltuk őket. Az AW1 és AW2 mosópufferek segítségével a reziduális szennyeződések is eltávolíthatók ebben a két lépésben a nukleinsavról. Minden centrifugálás után az alsó folyadékkal teli gyűjtőcsöveket lecseréltük a következő centrifugálás előtt. Utolsó lépésként 60 µl Buffer AVE oldatot mértünk a filteres csövek közepére, majd egy percen keresztül szobahőmérsékleten inkubáltuk a mintákat. Ezen oldat segítségével a mikrobiális szaporodást és az RNázokkal való későbbi szennyeződések kerüljék el. Végül 1 percig 6000 x g gyorsuláson centrifugáltuk, végül megkapva a tiszta nukleinsavat. Az így kinyert RNS-eket tartalmazó mikrocentrifuga csöveket -80 °C-on tároltuk.

4.4 qRT-PCR

A vírusnukleinsav kimutatását real-time (kvantitatív) reverz transzkripció polimeráz láncreakcióval (qRT-PCR) kíséreltük meg. Ehhez a Verso 1-step RT-qPCR Mix, ROX Kit-et (Thermo Fisher Scientific, USA, Cat. No.: AB4101C) használtuk a gyártó utasításainak megfelelően. A 15 µl reakcióelegy a következőket tartalmazta csövenként: 3.3 µl RNáz mentes víz, 7.5 µl 1-Step qPCR ROX Mix (2X), 0.75 µl RT Enhancer, 0.15 µl Enzyme mix, 0.6 µl Forward Primer, 0.6 µl Reverse Primer, 0.6 µl Probe, 1.5 µl RNS. A negatív kontroll a reakcióelegyen kívül mást nem tartalmazott, a kontamináció elkerülése végett ezt a mikrocentrifuga csövet különítettük el először a mintákat, illetve a pozitív kontrollt

tartalmazóktól. A reakcióelegyben alkalmazott primerek diagnosztikai célokra elfogadottak és a konzervatív ORF 3 régió meghatározott hosszúságú darabját amplifikálják, így minden állatfajból származó minta vizsgálatára általánosan alkalmazhatók, mert a különféle fajokhoz (sertés, nyúl, vaddisznó) esetlegesen adaptálódott vírusvariánsokat is kimutatják. A primerek nukleotid sorrendje a következő: forward primer (5'-GGTGGTTTCTGGGGTGAC-3'); reverse primer (5'-AGGGGTGTTGGATGAA-3'), probe (5'-Fam-TGATTCTCAGCCCTTCGC-Tamra-3') (Jothikumar és mtsai., 2006). Pozitív kontrollként egy korábbi vizsgálatból származó, nyúl eredetű, szekvenálással is bizonyítottan HEV RNS-t tartalmazó mintát használtunk. A negatív kontrollban (no template control) a nukleinsav helyett megfelelő mennyiségű vizet adtunk a csőben levő elegyhez.

A PCR program első lépése 15 percig tartott 50 °C-on, ezalatt megtörtént a reverz transzkripció, tehát az RNS-ről cDNS másolat készült. A második lépés 15 percig tartott 95 °C-on, ezalatt inaktiválódott a reverz-transzkriptáz és aktiválódott a polimeráz enzim. Ezt követte a 45 ciklusból álló DNS-amplifikálás, ahol először 95 °C-on 15 mp-ig denaturáció zajlott, majd 53 °C-on 1 percig egy lépésben a primerek DNS szálakhoz való tapadása (annealing) és a lánchosszabbítás (extenzió) történt. A DNS mennyiségének detektálása a specifikusan kötődő fluoreszcens jelet kibocsátó probe-ok segítségével is ebben a fázisban történt minden ciklus végén. A nukleinsav sokszorozódása valós időben nyomon követhető, majd a reakció végeztével a PCR gépet irányító QREX-alkalmazás segítségével kiértékelhetővé vált.

4.5 ELISA

Azoknál a mintáknál, ahol sikerült a húsból kiszivárgó juice-t összegyűjteni az ellenanyagok detektálására indirekt ELISA tesztet alkalmaztunk. Ehhez az ID Screen® Hepatitis E Indirect Multi-species Kit-et (ID-Vet, Franciaország, Cat. No: HEVB-MS-4P) használtuk. A kit több állatfajból származó vérminták tesztelésére alkalmas, a lemezre kötött antigén révén az Európában leggyakrabban előforduló 3-as genotípusú hepatitis E elleni antitestek kimutatására szolgál. A „biwell” rendszerű kitben a lemez páros oszlopaiban a mélyedések aljára antigént kötöttek, míg az antigént nem tartalmazó páratlan oszlopok a „háttérzaj” kiszűrésével segítették az aspecifikus reakciók megkülönböztetését. A 96 lyukú ELISA lemezekben 2 lukpárba pozitív, míg 2 lukpárba negatív kontrollt mértünk, a lemez további mélyedéseibe a minták kerültek. A vizsgálat első lépéseként a savó/juice hígítására szolgáló Dilution Buffer-t adagoltuk a mélyedésekbe. Kontrollok és savó minták esetén 190 µl Dilution Buffer és 10 µl minta (1:20 hígítás) az arány, míg a juice minták esetében 100 µl Dilution Buffer és 100 µl minta, azaz 1:2 hígítási arányt alkalmaztunk korábbi vizsgálatok

tapasztalata, illetve különböző szakirodalmi javaslatok (Nielsen és mtsai., 1998; Casas és mtsai., 2011) alapján. A 45 perces, szobahőmérsékleten való inkubációt követően a mosópuffer hígítása történt az utasításoknak megfelelően, 190 ml vízhez 10 ml 20× koncentrációjú mosópuffert öntöttünk. Minden lyukhoz a lemezen 300 µl-t adtunk az előbb elkészített elegyből, majd ennek eltávolítása után a mosópuffer hozzáadását még kétszer megismételtük. Az utolsó ismételtség után a lemezt az asztalra helyezett törlőpapíron ütögetve az utolsó cseppeket is eltávolítottuk. Ezután 1:10 arányban hígítottuk a Conjugatumot (1 ml Conjugatum : 9 ml Dilution Buffer), majd ebből 100 µl-t a mélyedésekbe adagolva a lemezt 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk. A Conjugátum, azaz a több fajra is specifikus, peroxidáz enzimmel jelölt secunder ellenanyag a mintában jelen levő, bármelyik állatfajban és emberben termelt anti-HEV ellenanyaghoz kötődik. Újabb 3 × 300 µl mosópufferes öblítést követően minden lyukhoz 100 µl TMB Substrate oldatot adtunk, majd a 15 perces szobahőmérsékleten, a szubsztrát fényérzékenysége miatt sötétkamrában történt inkubációt követően a színváltozást fotométerrel (Labsystems MultiscanEX-355 ELISA leolvasó és Genesis Lite v. 3.03 (Life Sciences (UK) Ltd.) program) 450 nm hullámhosszon mértük.. Az így kapott OD értékeket a kit leírásában részletezett kalkulációval az MS Excel programban automatizáltan értékeltük:

$$S/P = (\text{netOD}_{\text{sample}}/\text{netOD}_{\text{PC}}) \times 100, \text{ ahol } \text{netOD} = \text{OD}_{\text{páros luk}} - \text{OD}_{\text{páratlan luk}}$$

Az eredmény értékelése a kalkulált S/P alapján: $\leq 60\%$ - negatív, $> 60\%$ és $< 70\%$ - kétes, $\geq 70\%$ - pozitív.

A vizsgálat eredményét validnak értékeltük, ha a következő feltételek teljesültek:

$$\text{netOD}_{\text{PC}} > 0,350 \text{ és } \text{netOD}_{\text{PC}} / \text{netOD}_{\text{NC}} > 3$$

5. Eredmények

5.1 Real-Time qRT-PCR

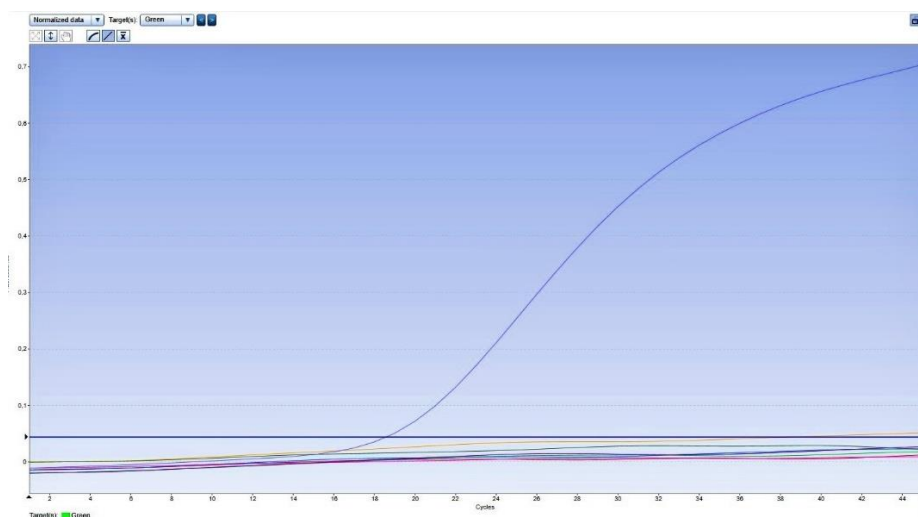
Vizsgálatainkban a vírus nukleinsavának kimutatását 173 mintából kíséreltük meg. Ezek állatfaj-eredet szerinti megoszlását a **3. táblázat** tartalmazza.

3. táblázat: qRT-PCR élelmiszer minták állatfajok szerinti megoszlása

Élelmiszer állatfaj-eredete	Mintaszám
Sertés	159
Vaddisznó	3
Szarvas	2
Nyúl	9

A mintákat elérhetőségük függvényében szereztük be különféle kiskereskedelmi egységekből az egyetemi beszerzési szabályzatnak megfelelően. Bár túlnyomó részt sertés eredetű termékeket vizsgáltunk, a minták eredet szerinti megoszlása fogyasztói szempontból nézve arányosnak tekinthető, hiszen egy átlagos fogyasztó élete során sokkal több sertéshúst eszik, mint vaddisznó-, szarvas- vagy nyúlhúst.

Az RT-PCR vizsgálatok eredménye mind a 173 esetben negatív lett, azaz a HEV nukleinsava nem volt kimutatható a mintákból. Pozitívnak azt a mintát tekintettük volna, melyben a reakció 45 ciklusa során a 38. ciklus előtt kezd el az emissziós görbe felfelé indulni és a görbe S alakú, mint a pozitív kontroll esetében (**4. ábra**).



4. ábra: qRT-PCR eredmény: a pozitív kontroll pozitív, míg a vizsgált minták és a negatív kontroll eredménye negatív

5.2 ELISA eredmények

Az anti-HEV ellenanyagok jelenlétét azokban a mintákban kíséreltük meg kimutatni, amelyekből a vizsgálatokhoz kellő mennyiségű, azaz legalább 200 µl juice összegyűjtése lehetséges volt. Összesen 36 termékből származó mintát vizsgáltunk, melyek részletes adatait és az ELISA teszt eredményét a **4. táblázatban** foglaltuk össze.

4. táblázat: ELISA teszthez használt élelmiszerminták típusa és eredménye

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	ELISA eredmény
HHF 20 (J)	HU/62/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 21 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 22 (J)	HU/510/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 25_1 (J)	HU/115/EK	Nyúlmáj	negatív
HHF 25_2 (J)	HU/115/EK	Nyúlmáj	negatív
HHF 25_3 (J)	HU/115/EK	Nyúlmáj	negatív
HHF 25_4 (J)	HU/115/EK	Nyúlmáj	negatív
HHF 26 (J)	PL/24770305/WE	Darált sertéshús	pozitív
HHF 27 (J)	PL/24770305/WE	Darált sertéshús	pozitív
HHF 36 (J)	PL/24770305/WE	Darált sertéshús	pozitív
HHF 37 A (J)	PL/24770305/WE	Sertéstarja	pozitív
HHF 37 B (J)	PL/24770305/WE	Sertéstarja	pozitív
HHF 44 (J)	HU/1163/EK	Szarvas lapocka	negatív
HHF 57 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 58 (J)	HU/62/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 60 (J)	HU/1163/EK	Vaddisznó comb	negatív
HHF 61 (J)	HU/1163/EK	Szarvasgerinc	negatív
HHF 62_4 (J)	HU/115/EK	Nyúlmáj	negatív
HHF 63 (J)	AT/61885/EG	Sertésmáj	pozitív
HHF 74 (J)	HU/62/EK	Sertés csülök	negatív
HHF 76 (J)	HU/6/EK	Sertés disznótoros	pozitív
HHF 77 (J)	HU/514/EK	Sertés disznótoros	negatív
HHF 80 (J)	HU/510/EK	Sertés pörkölt	negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	ELISA eredmény
HHF 81 (J)	HU/510/EK	Sertés comb	pozitív
HHF 82 (J)	HU/510/EK	Sertés oldalas	pozitív
HHF 85 (J)	HU/1360/EK	Sertés lapocka	pozitív
HHF 86 (J)	PL/24770305/WE	Sertés csülök	negatív
HHF 87 (J)	PL/24770305/WE	Sertéstarja	negatív
HHF 89 (J)	HU/354/EK	Sertés disznótoros	negatív
HHF 97 (J)	HU/62/EK	Sertésszűz	pozitív
HHF 102 (J)	HU/62/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 103 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 104 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 105 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív
HHF 106 (J)	HU/62/EK	Sertéskaraj	pozitív
HHF 107 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús	pozitív

Összesen 22 minta esetében kaptunk pozitív eredményt ezek mindegyik sertés eredetű élelmiszerből származott. A sertés minták 78,5%-a, míg a vizsgált minták összességét nézve 61,1%-os pozitivitást mutattunk ki. Az állatfaji eredet szerinti megoszlását és az ellenanyag-kimutató teszt eredményét az **5. táblázat** mutatja.

5. táblázat: ELISA teszt eredmények

Élelmiszer állatfaji eredete (juice)	Mintasám	Pozitív	Negatív
Sertés	28	22	6
Vaddisznó	1	0	1
Szarvas	2	0	2
Nyúl	5	0	5

6. Diszkusszió

Szakirodalmi adatok alapján ismert, hogy Európa több országában (Magyarország, Anglia, Németország, Finnország, Hollandia, Olaszország, Skócia) növekszik a HEV-hez kapcsolt humán fertőzések száma (Adlloch és mtsai., 2014). Magyarországon 2004 és 2010 között végzett felmérés során ismertté vált, hogy a hepatitis E vírus jelen van a legfőbb rezervoár állatokban úgy, mint a házi sertés, vaddisznó, szarvas és nyúl (Forgách és mtsai, 2010b). A magyarországi kutatás során kimutatott vírustörzsek mindegyike a 3-as genotípusú volt, de a többi Európai országban is magasan a HEV-3 típusba tartozó törzsek domináltak (Adloch és mtsai., 2014).

A szakdolgozatomban ismertetett vizsgálatok közvetlen előzménye két, egy szakdolgozatban és egy TDK dolgozatban ismertetett, a vírusfertőzés sertésekben és nyulakban való lefolyását célzó felmérés előzte meg. Sam Gallagher szakdolgozatában egy HEV-fertőzésre pozitív sertéstelepen szerológiai módszerrel előbb a vírusfertőzés valószínű időpontját, ezt követően pedig 180 állatban a vírusfertőzés lefolyását vizsgálta a vírus nukleinsavának bélsárból való kimutatásával (Gallagher, 2015). Eredményei szerint a vizsgált sertéstelepen a maternális immunitás 12 hetes korra szűnik meg, és ezt követően a hizlaldába kerülő sertések között, a vírus lassan, kb. a vágósúly eléréséig folyamatosan terjed. A vizsgált 180 állatot 6 csoportra osztották, ezek közül 5 csoport hízó és 1 csoport tenyész célokra kiválogatott sertés volt. A hízók csoportjai közül háromban a vágóhídra kerülés előtt is, míg a tenyész sertésekben a vágókor után is kimutatható volt a vírus jelenléte a bélsárban. Ez az eredmény összecseng a témavezető korábban ismertetett eredményeivel, melyek szerint vágókorban a sertések 9-16%-a vírusürítő (Forgách, 2010). A HEV fertőzés lezajlását nyulakban Kanizsai Krisztián kutatta 2016-ban kórbonctani vizsgálatok során, illetve vágóhídon gyűjtött mintákban (Kanizsai, 2016). Eredményei szerint vannak Magyarországon HEV-fertőzött nyúltelepek, a fertőzés 9 hetes kor körül történik, így a vizsgált, 11 hetes korban vágóhídra került nyulak 42%-ában kimutatható volt a vírus nukleinsava.

Mindezek alapján feltételezhető, hogy a magyarországi kereskedelmi forgalomban kapható élelmiszerekben is kimutatható a HEV jelenléte. Kutatásunk során tulajdonképpen arra a kérdésre kerestünk választ, hogy a humán fertőzések növekvő tendenciájának kiváltó oka lehet-e a fertőzött hús, illetve húskészítmények fogyasztása, a rendelkezésre álló anyagi háttér és idő azonban csupán egy előkísérletre volt elegendő, melyben azt igyekeztünk felmérni, statisztikailag milyen számú minta szükséges a vírus kimutatásához élelmiszerekben, és szükséges-e speciális mintafeldolgozási módszer a vírus kimutathatóságának biztosításához.

Ehhez az élelmiszer-mintákat kiskereskedelmi egységekben szereztünk be, elérhetőségük függvényében. A minták beszerzése során az állatfaj szerinti megoszlást tekintve a fogyasztói arányt igyekeztünk leképezni: egy átlagos ember élete során arányaiban több sertéshúst fogyaszt, mint vaddisznó-, szarvas- vagy nyúlhúst. Így a beszerzett élelmiszerek több, mint 80 %-ban sertés eredetűek voltak.

Összesen 209 mintát vizsgáltunk meg, melyek 110 élelmiszerből származtak. Egyes élelmiszereket többféleképpen is megvizsgáltunk (qRT-PCR/ELISA), ezenkívül a friss és érlelt töltelékes húskészítmények esetében külön vizsgáltuk az állati eredetű belet, illetve a töltelék, így az élelmiszerek minden külön vizsgált részét külön mintaként számoltuk. A követhetőség érdekében az összesített adattáblázatban minták elnevezésénél a sorszám jelzi, hogy mely minták származnak ugyanabból az élelmiszerből.

6.1 qRT-PCR vizsgálatok

Összesen 173 mintát vizsgáltunk qRT-PCR módszerrel, melyek minden esetben negatív eredményt mutattak.

A minták kicsivel több, mint felét (52 %) hurka és kolbász típusú élelmiszerek tették ki. Irodalmi adatok alapján az ilyen típusú élelmiszerekből Európa más országaiban nagyobb valószínűséggel tudták kimutatni a vírust (Pavio N. és mtsai., 2014; Szabo K. és mtsai., 2015; Srinivas és mtsai., 2020), így mi is nagyobb hangsúlyt fektettünk ezen élelmiszerekre a beszerzés során. Ezek esetében külön vizsgáltuk, így külön mintának is tekintettük a belet és töltelék. Így szerettük volna felmérni, hogy a vírus a töltelék alkotó húspan és/vagy bélben fordul elő nagyobb valószínűséggel. Mivel a kolbászokban és hurkákban feltételezhetően több állat húsa is keveredik, ezért figyelembe kell vennünk, hogy több állatra vonatkozik a negatív eredmény. A PCR minták másik fele natúr vagy előkészített (pácolt) darabolt vagy szeletelt húsokból (comb, lapocka, csülök, oldalas, sertésszűz), darált húsokból és májból származtak. Azon a minták esetében, melyeknél a csomagolásban 1-1 darab hús volt, ott egy állatra vonatkozik a negatív eredmény. Darált húso, pörkölhúso és a szeletelt húro (pl. karaj) esetében a hurkához és kolbászokhoz hasonlóan feltételezhetően több állatra vonatkozik az eredmény.

Az élelmiszerminták esetében az eredmények értékelése során figyelembe kell venni néhány potenciális befolyásoló tényezőt. Az egyik ilyen tényező, amit korábban is említettem, hogy egyes élelmiszerek esetében több állat húsa is keveredik. Ez az esetlegesen vírushordozó állat húsanak vírussal nem fertőzött állatok húsan való „felhígulását” eredményezhette az adott élelmiszerben, ezáltal a mintában a vírusnukleinsav mennyisége még a rendkívül

érzékeny real-time PCR-rel is kimutathatatlan mértékre csökkent. Szintén a vírus kimutathatóságát befolyásolhatta az általunk vett minta mennyisége az egyes élelmiszerekből. A szakirodalmi javaslatok alapján egységesen minden termékből 10 g mintát vettünk, amit a lehető legkisebb térfogatú PBS-ben, kb. 1:2-es hígításban homogenizáltunk, azonban lehetséges, hogy a vírus esetleges felhígulása miatt ennél nagyobb mennyiségű mintára van szükség (Szabo és mtsai., 2015). Ehhez azonban több hígítópuffert is kellene alkalmazni, ami megint csak a minta potenciális felhígulás veszélyét hordozza magában. A további vizsgálatokban tehát a mintahígítás hatékony módszerének kidolgozása szükséges, pl. a minta kis adagokban homogenizálása az adaghoz használt hígító puffer (PBS) centrifugálás utáni összegyűjtése, és az így nyert folyadékot az adott élelmiszer következő adagjának hígításához is felhasználva. Ugyanakkor vannak olyan szakirodalmi adatok, melyben sertés májat is tartalmazó kolbászból 2,5 mg mennyiséget 5 ml sejttenyésztő tápfolyadékban homogenizáltak, majd ebből 2,5 ml-t 47,5 ml tápfolyadékban szövettenyészetre oltották. Az oltást követően a szövettenyésztet-felülszóból vett 140 µl mintában a vírus-nukleinsav a 40 000-szeres hígítás ellenére kimutatható volt (Berto és mtsai., 2013).

A másik befolyásoló tényező az élelmiszer-előállítás folyamata. Igyekeztünk a lehető legváltozatosabban beszerezni a különböző élelmiszereket, így volt köztük nyers, sütnivaló, füstölt, érlelt, sózott és gyorspácolt előkészítésű is, elsősorban hőkezelés nélküli termékeket vizsgáltunk. Ezek az eltérő előkészítési módok, az érlelés ideje, a sózás is okozhatják a vírus-nukleinsav lebomlását. Ez alapján érdemes lehet elsősorban friss, pácolás és érlelés nélküli hústermékeket vizsgálni a vírus jelenlétére.

Végül pedig gondolnunk kell a termékek hús összetételére is. A HEV elsősorban a májban szaporodik, bár a viraemia során a vírus eljut más szervekbe és szövetekbe és ezáltal a vírus kimutatható az állatok izomzatából. A vírusedényiség az izomban kisebb, mint a májban (Kanizsai 2016). Magyarországon a „májás” termékek hőkezelés után kerülnek kereskedelmi forgalomba, amennyiben a hőkezelés megfelelő (70 °C maghőmérséklet legalább 20 percig), a vírus inaktiválódik és a nukleinsav is a kimutathatóságot akadályozóan denaturálódik (Barnaud és mtsai., 2012). Eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy elsősorban májat tartalmazó, hőkezelés nélküli élelmiszer-termékek vizsgálata javasolt, amennyiben a vírus kimutathatóságát szeretnénk felmérni.

6.2 ELISA vizsgálatok

A fentiekben ismertetett laboratóriumi paraméterek mellett felmerült annak a lehetősége is a direkt víruskimutatásban tapasztalt negatív eredmények háttérében, hogy az élelmiszerek eredetétől megjelölt állattartó telepek mentesek a fertőzéstől. Az ELISA teszteket annak érdekében végeztük el, hogy felmérjük az állattartó telepeken a vírusfertőzés előfordulási lehetőségét. Szakirodalmi adatok alapján ismert, hogy az ellenanyagok kimutathatók az ú.n. „juice” mintából is, vizsgálatainkban azonban nem csak a friss, pácolás nélküli, hanem a pácolt hústermékekből is igyekeztünk vizsgálatra alkalmas folyadékot kinyerni. Azoknál a mintáknál, ahol sikerült kellő mennyiségű juice-t (200 µl) összegyűjteni ELISA teszttel igyekeztünk anti-HEV ellenanyagot kimutatni a termékekből. Összesen 36 mintát vizsgáltunk meg ezzel a módszerrel. A 36 mintából 28 minta sertésből, 5 minta nyúlból, 2 minta szarvasból és 1 minta vaddisznóból származott.

Összesen 22 minta adott pozitív eredményt, melyek mind sertés eredetű élelmiszerekből származtak. Az ELISA teszt specifikussága miatt csak a pozitív eredményt tekinthetjük biztosnak. Negatív minta esetén nem kizárható, hogy hasonlóan a nukleinsav-kimutatáshoz, az élelmiszer feldolgozási módszere befolyásolta az eredményt: a felhígulás miatti kockázatot, valamint az ellenanyag károsodásának lehetőségét nem lehet biztosan kizárni. Bár a juice mintákat a savók mintákhoz javasolt 1:20-as hígítás helyett 1:2-es hígításban adtuk az ELISA lemezre, amennyiben több állat testfolyadéka keveredik egy termékben és ezek között ellenanyag-jelenlétére negatívak is vannak, az ellenanyag mennyisége a kimutathatóság szintje alá csökkenhet a juice mintában. Kanizsai Krisztián vizsgálatai (2016) alapján pedig ismert, hogy a vér hosszú ideig (3 hét) hűtőhőmérsékleten való tárolása az ellenanyagok károsodásához, lebomlásához vezethet, így a pácolt, érlelt hústermékekből származó juice minták esetében is gondolnunk kell erre a magyarázatra a negatív minták háttérében.

A 22 pozitív minta közül 13 darált húsból származott, 1 pedig disznótorosból (hurka-kolbász keverten), így ezekben a mintákban feltehetően több állat húsa is keveredett. Ilyen esetben a pozitív eredményt több állatra, azaz az állatokat kibocsátó állattartó telepre kell vonatkoztatni-. A maradék 8 minta egész húsokból (comb, lapocka, csülök, oldalas, máj) származtak, így ebben az esetben egy-egy állatra vonatkozott az eredmény.

A 36 mintából 28 minta magyarországi vágóhídról, míg 8 minta külföldi vágóhídról származott. A vágóhidak és feldolgozó üzemek megkülönböztetése az állategészségügyi azonosító jelölés alapján történik (6. táblázat).

6. táblázat: ELISA tesztek eredménye vágóhidak szerinti csoportosítása

Állategészségügyi jel	ELISA pozitív	ELISA negatív
HU/62/EK	6	1
HU/115/EK	0	5
HU/354/EK	0	1
HU/510/EK	3	1
HU/514/EK	0	1
HU/1163/EK	0	3
HU/1360/EK	7	0
AT/61885/EG	1	0
PL/24770305/WE	5	2

A kevés mintaelemszám alapján nem lehet szignifikáns következtetéseket levonni az eredményekből. Az elmondható viszont, hogy a vizsgált vágóhidakon levágott állatokat kibocsátó sertésállományokban előfordul a vírusfertőzés az ELISA teszt specifikussága miatt. Az állattartás módja nagymértékben befolyásolja a vírus terjedésének lehetőségét. A vágóhidakon a vírus terjedését elősegítő legfontosabb transzmissziós út a bélsárral való érintkezés (Salines és mtsai., 2017). Takarmány és ivóvíz útján ezáltal könnyen tud terjedni a kórokozó, ha fennáll a bélsárral való kontamináció, valamint a sertések közti érintkezés/keveredés lehetősége. A pozitív szerológiai eredmények alapján a nukleinsav-kimutatás sikertelenségében gondolnunk kell arra is, hogy a vágóhídra kerülés időpontjában a sertésekben nincs jelen a vírus. Korábbi vizsgálatok alapján (Sam Gallagher, 2015) ismert, hogy a sertések 12-16 hetes koruk között a legfogékonyabbak a fertőződésre. Ekkor a maternális immunitás miatti korábbi védettségük lecsökken, valamint a hízalási újracsoportosítás és takarmányváltás okozta stressz miatt legyengül az immunrendszerük. Legnagyobb mértékű vírusürítés a 11-16 hetes korosztályban figyelhető meg (Forgách és mtsai., 2010b). A korai fertőződés lehetséges oka lehet annak, hogy mire az állatok a vágóhídra kerülnek (24 hetesen) addigra már átesnek a fertőzésen, így a vírus nukleinsav kimutatásának esélye nagymértékben lecsökken.

A nyúl máj minták olyan nyúltenyésztő integrációból származnak, amelynek telepein Kanizsai Krisztián 2016-ban végzett vizsgálataiban a vírus jelenléte nem volt kimutatható. Szarvas és vaddisznó esetében pedig járványtani okok (kisebb populáció-sűrűség, vírus terjedésének mértéke korlátozott, a lőtt állat kora, stb.) magyarázhatják a negatív eredményt

mind a nukleinsav-kimutatás, mind a szerológiai módszer esetében. Ezen minták esetében természetesen az alacsony mintaelemszámot is figyelembe kell vennünk az eredmények értékelésében.

Hasonló vizsgálatokat végeztek Angliában, Németországban és Franciaországban is (Wacheck és mtsai., 2012; Colson és mtsai., 2010; Said és mtsai., 2017; Pallerla és mtsai., 2020). Ezen kutatások során sertés eredetű élelmiszereket vizsgáltak meg, melyek túlnyomó részt kolbász, a sertés különböző részeiből származó hús, illetve juice minták voltak. Ezeket különböző kereskedelmi egységekből szerezték be. Hasonlóképpen PCR vizsgálatokat végeztek, melyek során minden esetben sikerült pozitív mintákat kimutatniuk. A termékek nagyrésze hőkezeltlen nyers kolbász eredetű élelmiszerekből származott, melyek sertésmájat is tartalmaztak általában (Pavio és mtsai., 2016). Az esetleges állattartásból adódó különbségek magyarázatul szolgálhatnak annak, hogy mi a kutatásunk során a 173 elvégzett PCR teszt esetében egyszer sem tudtuk kimutatni a vírus nukleinsavát. Lehetséges, hogy Magyarországon az állattartási körülmények miatt a sertések hamarabb átesnek a vírusfertőzésen, így mire 24-25 hetesen a vágóhídra kerülnek már csak az ellenanyagot tudjuk kimutatni. Másfajta környezetben, ahol a sertések egymással való érintkezése, valamint a bélsárral való kontamináció a minimumra csökkenthető később fertőződnek a kórokozóval. Ez azt jelenti, hogy a vágóhídra kerüléskor még ürítik a vírust és nagyobb valószínűséggel lesz kimutatható az élelmiszerekből a vírus genetikai anyaga.

Végeztek kutatásokat a HEV hővel szembeni ellenállóképességének vizsgálatára (Rosengren, 2019). Sikeresen bizonyították, hogy megfelelő hőkezeléssel inaktiválni lehet a vírust. Ennek a hőkezelésnek a kórokozó ellenállóképessége miatt a jóval magasabb hőfokon kell történnie és hosszabb időn keresztül kell tartania, mint baktériumok vagy paraziták eliminálása során (Reinefjord, 2020). 2008-ban Feagins és munkatársai végeztek kísérletet, amely során kereskedelmi egységben vásárolt fertőzött májat háromféle hőkezelési módszerrel vizsgáltak. Az első kezelési csoportba tartozó májakat 191 °C-on 5-20 percen keresztül sütötték folyamatos kevergetés mellett, a második kezelési csoportba tartozókat 5 percen keresztül vízben főzték, míg a harmadik kezelési csoportba tartozókat 56 °C-on sütötték egy órán keresztül. A májakat hőkezelés után homogenizálták, majd intravénásan sertésekbe oltották és egy hét elteltével felmérték a sertések fertőzőképességét. Abban az esetben, amikor 56°C-on sütötték a májat egy órán keresztül a vírus aktív maradt, azok a sertések, amikbe beoltották pedig fertőzőképesek voltak.

Összefoglalva a legfontosabb eredményeinket az ELISA teszttel sikerült igazolnunk, hogy az állattartó telepeken jelen van a hepatitis E vírusfertőzés annak ellenére, hogy az

élelmiszerekből nem sikerült kimutatnunk a vírus nukleinsavát. Bár a fogyasztó szempontjából úgy tűnik, hogy Magyarországon ezek az élelmiszerek biztonságosnak mondhatók, hiszen a 173 vizsgált minta között nem találtunk olyat, amelyből a vírus nukleinsavát ki tudtuk volna mutatni. Az alacsony mintaszám miatt eredményeinkből messzemenő következtetések levonására nincs lehetőség. Fontos leszögezni azt is, hogy a vírus nukleinsavának kimutatása esetén, az adott élelmiszer mind addig nem jelenthető ki veszélyesnek a fogyasztóra nézve, amíg szövettényészetten vagy kísérleti állatok per os fertőzésével nem vizsgálták és igazolták a vírus fertőzőképességét.

6.3 További célok

Ezt a kutatásunkat egy elővizsgálatnak szántuk annak felmérésére, hogy egy nagyobb, több éves kutatási pályázatot érdemes-e összeállítani ebben a témában. Ezzel a 110 élelmiszerral, amit beszereztünk és megvizsgáltunk, tapasztalatokat szereztünk részben arról, hogy a továbbiakban milyen termékeket érdemes beszerezni. Emellett, mivel kutatásunk eredményei szerint a magyarországi kereskedelmi forgalomban kapható hőkezeletlen hústermékekben a vírus kimutatásának esélye kevesebb, mint 1 %, azt a következtetést is levonhatjuk, amennyiben a magyarországi kereskedelmi forgalomban kapható termékeket vizsgálunk, nagy mintaszámra van szükség a statisztikailag megbízható eredményekhez.

További vizsgálatokat érdemes elvégezni azokon a sertéstelepeken, ahol pozitív lett ELISA szűrésre az állomány. Nukleinsav-kimutatást elsősorban a vágóhídi mintákban (máj, hús, bél) javasolt megkísérelni, mivel a minták frissessége és feldolgozatlansága a vírus kimutathatóságának esélyét növeli. Amennyiben a vágókorú állatokban igazoljuk a fertőzés meglétét, a vizsgálatokat érdemes folytatni a feldogozottabb húskészítményekkel, figyelembe véve a korábban tárgyalt élelmiszer előállítási folyamatok következményeit a vírus nukleinsavának kimutathatóságára. További céljaink közt szerepel a vírust szövettényészetten való izolálásának rutinszerű alkalmazása, hogy az élelmiszerben kimutatott vírus fertőzőképességét igazolni lehessen. Ez azért fontos, mivel a kórokozó nukleinsavát akkor is kimutatja a PCR, ha a vírus már inaktiválódott, ugyanakkor ez az eredmény nem ad teljes képet a fogyasztó szempontjából a HEV jelenlétével kapcsolatos kockázatokról. A fertőző titer meghatározása lehetőséget ad élelmiszerminták meghatározott titerű vírussal való mesterségesen kontaminálásával annak vizsgálatára is, hogy az élelmiszer előállítási folyamatok milyen mértékben befolyásolják a vírus kimutathatóságát.

7. Összefoglalás

A hepatitis E vírus (HEV) a *Hepeviridae* családba, azon belül az *Orthohepevirus A* genusba tartozó kórokozó. A HEV burok nélküli, ikozaéder szimmetriájú, pozitív irányítottságú szimpla szálú RNS vírus, melynek genomja 7.2 kb hosszúságú. Összesen 8 genotípusa ismert. A HEV-3-4 genotípusba tartozó törzsek állatról emberre is képesek áttérjedni, így ezek felelősek a zoonotikus megbetegedésekért. A zoonotikus törzsek legfőbb rezervoár fajai a sertés, vaddisznó, őz, szarvas és nyúl. Korábbi kutatások igazolták, hogy a fejlett országokban a zoonotikus fertőzésért felelős vírustörzsek elsősorban bélsárral való érintkezés és ételmszer útján terjednek át állatokról emberekre.

A kutatásunk célja elsősorban az volt, hogy felmérjük magyarországi kereskedelmi forgalomban kapható, a fertőzésre fogékony fajokból származó húsokban és feldolgozott hústermékekben a hepatitis E vírus jelenlétét. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy ezek a termékek szerepet játszanak-e a fertőzés zoonotikus közvetítésében. Emellett a szerológiai vizsgálatokat végeztünk a vágóhídra kerülő állatokat kibocsátó állományok HEV-fertőzöttségének igazolására.

Összesen 110 ételmszer-termékből származó 209 mintát (pácolt hús, darált hús, töltelék, bél, juice) vizsgáltunk. A minták állatfaj eredet szerint sertésből, szarvasból, vaddisznóból és nyulból származtak. A vizsgálatok elvégzéséhez qRT-PCR és ELISA módszert alkalmaztunk. A nukleinsav-kimutató módszerrel vizsgált 173 minta mindegyike negatívnak bizonyult. ELISA teszteket azoknál a mintáknál végeztünk el, ahol sikerült kellő mennyiségű juice-t összegyűjteni a termékekből. Ellenanyag-kimutatást összesen 36 juice mintából kísértünk meg, közülük 22 mutatott pozitív eredményt. Mindegyik pozitív minta sertés eredetű ételmszerből származott.

Eredményeink szerint a vizsgált ételmszerek eredetűl szolgáló állattartó telepeken előfordul a vírusfertőzés. Ugyanakkor a HEV jelenlétének megbízható kimutatásához, valamint a HEV ételmszer-biztonsági jelentőségének igazolásához nagyobb számú, elsősorban májat hőkezelés nélkül tartalmazó ételmszer vizsgálatára van szükség. Tapasztalataink alapján a mintagyűjtés mellett a minta feldolgozása, valamint az ételmszer-előállítás folyamata is befolyásolhatja a vírus kimutathatóságát az ételmszerekben, ezért a HEV ételmszer-biztonsági jelentőségének igazolását célzó kutatásokat nagy körültekintéssel kell megtervezni.

8. Abstract

The Hepatitis E virus (HEV) is a pathogen belonging to the family Hepeviridae, including the genus *Orthohepevirus A*. HEV is a non-enveloped, icosahedral symmetry, positive-sense single-stranded RNA virus with a genome of 7.2 kb in length. A total of 8 genotypes are known. Virus strains belonging to the HEV-3-4 genotype are able to spread from animal to human, so they are responsible for zoonotic diseases. The main reservoir species of zoonotic strains are the swine, wild boar, deer, fawn and rabbit. Previous research has shown that virus strains responsible for zoonotic infection in developed countries are transmitted primarily from animals to humans through faecal-oral contact and food.

The aim of our research was primarily to assess the presence of hepatitis E virus in meat and processed meat products from susceptible species commercially available in Hungary. We sought to answer the question of whether these products play a role in the zoonotic transmission of infection. In addition, serological tests were performed to confirm HEV infection in herds releasing animals from the slaughterhouse.

A total of 209 samples from 110 food products (marinated meat, minced meat, stuffing, intestines, juice) containing pork, wild boar, deer and rabbit meat and offal were examined. The experiments were performed using qRT-PCR and ELISA. All 173 samples tested by the nucleic acid detection method were found to be negative. ELISA tests were performed on samples where a sufficient volume of juice was collected from the products. Antibody detection was attempted from a total of 36 juice samples, 22 of which showed positive results. All positive samples were collected from pork products.

According to our results, the virus infection occurs in the livestock farms where the examined foods originate. However, to reliably detect the presence of HEV and to demonstrate the food safety significance of HEV, a larger number of non-heat-treated foods, mainly liver needs to be tested. By our experience, in addition to sample collection, sample processing and the food production process can also affect the detectability of the virus in food, therefore studies to demonstrate the food safety significance of HEV should be planned with great care.

9. Irodalom

Abravanel F, Lhomme S, El Costa H, Schvartz B, Peron JM, Kamar N, Izopet J. (2017) Rabbit Hepatitis E Virus Infections in Humans, France. *Emerging Infectious Diseases*, 23(7):1191-1193.

Adlhoch C, Avellon A, Baylis SA, Ciccaglione AR, Couturier E, de Sousa R, Epstein J, Ethelberg S, Faber M, Fehér Á, Ijaz S, Lange H, Mand'áková Z, Mellou K, Mozalevskis A, Rimhanen-Finne R, Rizzi V, Said B, Sundqvist L, Thornton L, Tosti ME, van Pelt W, Aspinall E, Domanovic D, Severi E, Takkinen J, Dalton HR. (2016) Hepatitis E virus: Assessment of the epidemiological situation in humans in Europe, 2014/15. *Journal of Clinical Virology*, 82:9-16.

Aspinall EJ, Couturier E, Faber M, Said B, Ijaz S, Tavošchi L, Takkinen J, Adlhoch C; The Country Experts (2017) Hepatitis E virus infection in Europe: surveillance and descriptive epidemiology of confirmed cases, 2005 to 2015. *Eurosurveillance*, 22(26):30561.

Balayan M.S., Andjaparidze A.G., Savinskaya S.S., Ketiladze E.S., Braginsky D.N., Savinov A.P., Poleschuk V.F. (1983) Evidence for a virus in Non-A, Non-B hepatitis transmitted via faecal-oral route. *Intervirology*, 20. 23-31.

Barnaud E., Rogée S., Garry P., Rose N., Pavio N. (2012) Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(15):5153-9.

Berto A., Grierson S., Hakze-van der Honing R., Martelli F., Johne R., Reetz J., Ulrich RG., Pavio N., Van der Poel W.H., Banks M. (2013) Hepatitis E virus in pork liver sausage, France. *Emerging Infectious Diseases*, 19(2):264-6.

Centers for Disease Control (1987) Enterically transmitted non-A, non-B hepatitis Mexico. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 36:597–602.

Choi J.Y., Lee J.M., Jo Y.W., Min H.J., Kim H.J., Jung W.T., Lee O.J., Yun H., Yoon YS. (2013) Genotype-4 hepatitis E in a human after ingesting roe deer meat in South Korea. *Clinical and Molecular Hepatology*, 19(3):309-14.

Colson P., Borentain P., Queyriaux B., Kaba M., Moal V., Gallian P., Heyries L., Raoult D, Gerolami R. (2010) Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(6):825-34.

Dalton H.R., Bendall R., Ijaz S., Banks M. (2008) Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet Infectious Diseases*, 8(11):698-709.

De Cock KM, Bradley DW, Sandford NL, Govindarajan S, Maynard JE, Redeker AG (1987) Epidemic non-A, non-B hepatitis in patients from Pakistan. *Annals of Internal Medicine*, 106:227–230.

Doceul V., Bagdassarian E., Demange A., Pavio N. (2016) Zoonotic Hepatitis E Virus: Classification, Animal Reservoirs and Transmission Routes. *Viruses*, 8, 270.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards) (2017) Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *EFSA Journal* 2017;15(7):4886. *EFSA Journal*. 9(7). 2190 [96 pp.]

European Food Safety Authority, Panel on Biological Hazards (BioHaz) (2011) Scientific Opinion on an update on the present knowledge on the occurrence and control of foodborne viruses. *EFSA Journal*. 9(7). 2190 [96 pp.]

Emerson S.U., Purcell R.H. (2003) Hepatitis E virus. *Reviews in medical virology*, 3:145-54

Feagins, A., Opriessnig, T., Guenette, D., Halbur, P. and Meng, X., (2008) Inactivation of infectious hepatitis E virus present in commercial pig livers sold in local grocery stores in the United States. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1-2), pp.32-37.

Forgách P., Nowotny N., Erdélyi K., Boncz A., Zentai J., Szűcs G., Reuter G., Bakonyi T. (2010b): Detection of hepatitis E virus in samples of animal origin collected in Hungary. *Veterinary Microbiology*, 143(2-4). 106-116.

Fu RM, Decker CC, Dao Thi VL (2019) Cell Culture Models for Hepatitis E Virus. *Viruses*, 11(7):608.

Gallagher S. (2015) Hepatitis E virus: the time course of infection in a swine herd followed by serological PCR investigation. Szent István University, Szakdolgozat

Himmelsbach K., Bender D., Hildt E. (2018) Lifecycle and morphogenesis of hepatitis E virus. *Emerging Microbes&Infections*,7:196.

Hoofnagle J. H., Nelson K. E., Purcell R.H. (2012) Hepatitis E. *The new england journal of medicine*, 367:1237-44.

Kamar N., Izopet J., Pavió N., Aggarwal R., Labrique A., Wedemeyer H., Dalton H.R. (2017) Hepatitis E virus infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 3:17086.

Kamar N., Pischke S. (2019) Acute and Persistent Hepatitis E Virus Genotype 3 and 4 Infection: Clinical Features, Pathogenesis, and Treatment. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 9(7): a031872.

Kane MA, Bradley DW, Shrestha SM, Maynard JE, Cook EH, Mishra RP, Joshi DD (1984) Epidemic non-A, non-B hepatitis in Nepal. Recovery of a possible etiologic agent and transmission studies in marmosets. *Journal of the American Medical Association*, 252:3140–3145.

Kanizsai K. (2016) Házinyulak hepatitis E vírus fertőzöttsége Magyarországon. Állatorvostudományi Egyetem, TDK dolgozat

Kantala T., Leena M. (2018) Hepatitis E virus: zoonotic and foodborne transmission in developed countries. *Future Virology*, 13(5).

Krumbholz A., Joel S., Neubert A., Dremsek P., Durrwald R., Johne R., Hlinak A., Walther M., Lange J., Wutzler P., Sauerbrei A., Rainer U., Zell R. (2013) Age-related and regional differences in the prevalence of hepatitis E virus-specific antibodies in pigs in Germany. *Veterinary Microbiology*; 167: 394–402.

Lange, J. Overboe, K. Borgen, S. Dudman, G. Hoddevik, A. M. Urdahl, L. Vold, S.K. Sjurseth (2017) Hepatitis E in Norway: seroprevalence in humans and swine. *Epidemiology and Infection*, 145, 181–186.

LeDesma R., Nimgaonkar I., Ploss A. (2019) Hepatitis E Virus Replication. *Viruses*, 11(8):719.

Lhomme S., Marion O., Abravanel F., Chapuy-Regaud S., Kamar N., Izopet J. (2016) Hepatitis E pathogenesis. *Viruses* 8, 212.

Li T.C., Chijiwa K., Sera N., Ishibashi T., Etoh Y., Shinohara Y., Kurata Y., Ishida M., Sakamoto S., Takeda N., Miyamura T. (2005) Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerging Infectious Diseases*, 11(12):1958-60.

Mehnaaz S. Khuroo, Mohammad S. Khuroo (2016) Hepatitis E: an emerging global disease – from discovery towards control and cure. *Journal of viral hepatitis*, 23, 68-79.

Meister T.L., Bruening J., Todt D, Steinmann E. (2019) Cell culture systems for the study of hepatitis E virus. *Antiviral Research*, 163:34-49.

Murphy EG, Williams NJ, Jennings D, Chantrey J, Verin R, Grierson S, McElhinney LM, Bennett M. (2019) First detection of Hepatitis E virus (Orthohepevirus C) in wild brown rats (*Rattus norvegicus*) from Great Britain. *Zoonoses Public Health*, 66(6):686-694.

N., Van der Poel WH., Banks M. (2013) Hepatitis E virus in pork liver sausage, France. *Emerging Infectious Diseases*, 19(2):264-6.

Pallerla SR, Schembecker S, Meyer CG, Linh LTK, John R, Wedemeyer H, Bock CT, Kremsner PG, Velavan TP. (2021) Hepatitis E virus genome detection in commercial pork livers and pork meat products in Germany. *Journal of Viral Hepatitis*, 28(1):196-204.

Pavio N., Doceul V., Bagdassarian E., John R. (2017) Recent knowledge on hepatitis E virus in Suidae reservoirs and transmission routes to human. *BMC Veterinary Research*, 48:78.

Pavio N., Laval M., Maestrini O., Casabianca F., Charrier F., Jori F. (2016) Possible Foodborne Transmission of Hepatitis E Virus from Domestic Pigs and Wild Boars from Corsica. *Emerging Infectious Diseases*, 22(12):2197-2199.

Pavio N., Merbah T., Thebault A. (2014) Frequent hepatitis E virus contamination in food containing raw pork liver, France. *Emerging Infectious Diseases*, 20(11):1925-7.

Ponterio E, Di Bartolo I. Orru G., Liciardi M., Ostanello F., Ruggeri F.M. (2014) Detection of serum antibodies to hepatitis E virus in domestic pigs in Italy using a recombinant swine HEV capsid protein. *BMC Veterinary Research*; 10: 133.

Purcell R.H., Emerson S.U. (2001) Hepatitis E virus. In: Fields Virology (4th ed.). Serek: Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Martin M.A., Lamb R.A., Roizman B., Straus S.E., Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins. p. 3051-3061.

Reinefjord R. (2020) Veterinary Public Health and Food Safety Aspects of Hepatitis E Virus (HEV). University of Veterinary Medicine, Thesis.

Reuter G., Boros Á., Pankovics P. (2020) Review of Hepatitis E Virus in Rats: Evident Risk of Species *Orthohepevirus C* to Human Zoonotic Infection and Disease. *Viruses*, 12(10):1148.

Rosengren, Å. (2019). Livsmedelsburen hepatit E. *Livsmedelsverkets rapportserie*. Uppsala. L2019 nr 09 del 1. ISSN 1104-7089.

Said B., Usdin M., Warburton F., Ijaz S., Tedder RS., Morgan D. (2017) Pork products associated with human infection caused by an emerging phylotype of hepatitis E virus in England and Wales. *Epidemiology and Infection*, 145(12):2417-2423.

Salines M., Andraud M., Rose N. (2017) From the epidemiology of hepatitis E virus (HEV) within the swine reservoir to public health risk mitigation strategies: a comprehensive review. *BMC Veterinary Research*, 48:31.

Shali R., Fraga M., Semela D., Moradpour D., Gouttenoire J. (2019) Rabbit HEV in immunosuppressed patients with hepatitis E acquired in Switzerland. *Journal of Hepatology*, 70 (5) P1023-1025.

Smith DB, Izopet J., Nicot F., Simmonds P., Jameel S., Meng XJ., Norder H., Okamoto H., van der Poel WHM, Reuter G., Purdy MA. (2020) Update: proposed reference sequences for subtypes of hepatitis E virus (species *Orthohepevirus A*). *Journal of General Virology*, 101(7):692-698.

Spancerniene U., Grigas J., Buitkuviene J., Zymantiene J., Juozaitiene V., Stankeviciute M., Razukevicius D., Zienius D., Stankevicius A. (2018) Prevalence and phylogenetic analysis of hepatitis E virus in pigs, wild boars, roe deer, red deer and moose in Lithuania. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1):13.

Sridhar S., Lau Suzanne K.P., Woo C.M.P. (2015) Hepatitis E: a disease of reemerging importance. *Journal of the Formosan Medical Association*, 114(8):681-90.

Szabo K, Trojnar E, Anheyer-Behmenburg H, Binder A, Schotte U, Ellerbroek L, Klein G, John R. (2015) Detection of hepatitis E virus RNA in raw sausages and liver sausages from retail in Germany using an optimized method. *International Journal of Food Microbiology*, 215:149-56.

Takova K, Koynarski T, Minkov I, Ivanova Z, Toneva V, Zahmanova G. (2020) Increasing Hepatitis E Virus Seroprevalence in Domestic Pigs and Wild Boar in Bulgaria. *Animals (Basel)*, 10(9):1521.

Tanaka T., Takahashi M., Kusano E., Okamoto H. (2007) Development and evaluation of an efficient cell-culture system for Hepatitis E virus. *Journal of General Virology*, 88(Pt 3):903-911.

Todt D., Friesland M., Moeller N., Praditya D., Kinast V., Brüggemann Y., Knegendorf L., Burkard T., Steinmann J., Burm R., Verhoye L., Wahid A., Meister T.L., Engelmann M., Pfankuche V.M., Puff C., Vondran F.W.R., Baumgärtner W., Meuleman P., Behrendt P., Steinmann E. (2020) Robust hepatitis E virus infection and transcriptional response in human hepatocytes. *PNAS (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)*, 117(3):1731-1741.

Wacheck S., Werres C., Mohn U., Dorn S., Soutschek E., Fredriksson-Ahomaa M., Märklbauer E. (2012) Detection of IgM and IgG against hepatitis E virus in serum and meat juice samples from pigs at slaughter in Bavaria, Germany. *Foodborne Pathogens and Disease*, (7):655-60.

Wallace SJ., Crossan C., Hussaini SH., Dalton HR. (2019) Hepatitis E: a largely underestimated, emerging threat. *British Journal of Hospital Medicine* 80(5).

Wang Y, Zhao C, Qi Y, Geng Y (2016) Hepatitis E virus. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 948:1-16.

Zhang H., Ling R., Li H., Harrison T.J. (2000) The complete sequence of hepatitis E virus genotype 4 reveals an alternative strategy for translation of open reading frames 2 and 3. *J. Journal of General Virology*, 81(7). 1675-1686.

Zhuang H, Cao XY, Liu CB, Wang GM. (1991) Epidemiology of hepatitis E in China. *Journal of Gastroenterology*, Suppl 3:135-8.

10. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Forgách Petrának, aki szakértelmével, tanácsaival, fáradhatatlan segítségnyújtásával, végtelen türelmével irányította és segítette munkámat. Nélküle ez a kutatás és szakdolgozatom nem valósulhatott volna meg. Hálás köszönettel tartozom továbbá, az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék munkatársának, Bakonyi Győzőnek, a laboratóriumi munka során nyújtott nélkülözhetetlen segítségéért.

Köszönöm továbbá az ÁTE Biológiai Intézet munkatársainak azt, hogy a témabeszámolókon adott tanácsaikkal és feltett kérdéseikkel hozzájárultak a munkám megfelelő színvonalon való elkészítéséhez.

Végül, de nem utolsósorban hálás köszönettel tartozom szeretteimnek és barátaimnak, akik türelmükkel és támogatásukkal segítették munkámat és ezáltal a szakdolgozatom megvalósulását.

11. Mellékletek

1. melléklet: Teljes élelmiszerminta adatállomány

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 1	DE/EVII75/EG	Bacon, füstölt, gyorspácolt		negatív
HHF 2 (T)	HU/6/EK	Sertés májas hurka, hőkezelt, vákuumcs. (só: 1,5 g)		negatív
HHF 2 (B)	HU/6/EK	Sertés májas hurka hőkezelt vákuumcs. (só: 1,5 g)		negatív
HHF 3 (T)	HU/6/EK	Sertés véres hurka hőkezelt vákuumcs. (só: 1,5 g)		negatív
HHF 3 (B)	HU/6/EK	Sertés véres hurka hőkezelt vákuumcs. (só: 1,5 g)		negatív
HHF 4 (T)	HU/173/EK	Csemege Debreceni vákuumcs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 4 (B)	HU/173/EK	Csemege Debreceni vákuumcs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 5 (T)	HU/173/EK	Baconos disznótoros védőgázcs. (só: 2,3 g)		negatív
HHF 5 (B)	HU/173/EK	Baconos disznótoros védőgázcs. (só: 2,3 g)		negatív
HHF 6 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 6 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs. (só: 2,1 g)		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 7 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas csomagolás (só: 2,1 g)		negatív
HHF 7 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas csomagolás (só: 2,1 g)		negatív
HHF 8 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas cs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 8 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas cs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 9	DE/EV/42/EG	Kolozsvári szalonna gyorspácolt, folyékony füsttel füstölt, vákuumcs. (só 4g)		negatív
HHF 10	HU/817/EK	Bacon szalonna gyorspácolt, védőgázas cs. (só: 2,6 g)		negatív
HHF 11	DE/EV65/EG	Nyers füstölt, lassan pácolt sonka sertéscombból védőgázas cs. (Só: 4g)		negatív
HHF 12	HU/817/EK	Bacon gyorspácolt, védőgázas cs. (só: 2,5 g)		negatív
HHF 13 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas cs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 13 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázas cs. (só: 2,1 g)		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 14 (T)	HU/510/EK	Csemege Debreceni sertés és marhahúsból füstölt vákuumcs. (só: 1,75 g)		negatív
HHF 14 (B)	HU/510/EK	Csemege Debreceni sertés és marhahúsból füstölt vákuumcs. (só: 1,75 g)		negatív
HHF 15 (T)	HU/57/EK	Kolbász füstölt vákuumcs. (só: 2 g)		negatív
HHF 15 (B)	HU/57/EK	Kolbász füstölt vákuumcsom. (só: 2 g)		negatív
HHF 16 (T)	HU/106/EK	Grillkolbász vákuumcs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 16 (B)	HU/106/EK	Grillkolbász vákuumcs. (só: 2,1 g)		negatív
HHF 17	DE/EV/1712/EG	Sertéshús szelet, érlelés-szabályozó, védőgázas cs. (só: 3,25 g)		negatív
HHF 18	DE/EV/1712/EG	Sertéshús szelet, érlelés-szabályozó védőgázasc. (só: 3,25 g)		negatív
HHF 19	HR/8/EU	Csevapcsicsa, darált sertés és marhahús, védőgázas csomagolásban (só: 2,01 g)		negatív
HHF 20	HU/62/EK	Darált sertéshús (30%) + juice		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 20 (J)	HU/62/EK	Darált sertéshús (30%) + juice	pozitív	
HHF 21	HU/1360/EK	Darált sertéshús (7%) védőgázas cs.		negatív
HHF 21 (J)	HU/1360/EK	Darált sertéshús (7%) védőgázas cs.	pozitív	
HHF 22	HU/510/EK	Sertés darálthús védőgázas cs.		negatív
HHF 22 (J)	HU/510/EK	Sertés darálthús védőgázas cs.	pozitív	
HHF 23	DE/NI 17568/EG	Kockázott bacon		negatív
HHF 24	HU/817/EK	Bacon, gyorspácolt, füstölt, védőgázas cs.		negatív
HHF 25_1	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 25_1 (J)	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.	negatív	
HHF 25_2	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 25_2 (J)	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.	negatív	
HHF 25_3	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 25_3 (J)	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.	negatív	
HHF 25_4	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 25_4 (J)	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.	negatív	

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 26	PL/24770305/WE	Darált sertéshús védőgázos csomagolásban (zsír 10%)		negatív
HHF 26 (J)	PL/24770305/WE	Darált sertéshús védőgázos cs.(zsír 10%)	pozitív	
HHF 27	PL/24770305/WE	Darált sertéshús védőgázos cs. (zsír 20%)		negatív
HHF 27 (J)	PL/24770305/WE	Darált sertéshús védőgázos cs. (zsír 20%)	pozitív	
HHF 28 (T)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 28 (B)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 29 (T)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 29 (B)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 30 (T)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 30 (B)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 31 (T)	PL/24770305/WE	Sertés-marha nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 31 (B)	PL/24770305/WE	Sertés-marha nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 32 (T)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 32 (B)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 32 (T)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 32 (B)	PL/24770305/WE	Nyerskolbász védőgázos cs.		negatív
HHF 33 (T)	HU/57/EK	Kolbász előhűtött, emészthető bél, vákuumcs.		negatív
HHF 33 (B)	HU/57/EK	Kolbász előhűtött, emészthető bél, vákuumcs.		negatív
HHF 34	PL/24770305/WE	Sertés császárszalonna csont nélkül, szeletelt, védőgázos cs.		negatív
HHF 35	PL/24770305/WE	Sertés-marha húspogácsa védőgázos cs.		negatív
HHF 36	PL/24770305/WE	Sertés cevapcsicsa védőgázos cs.		negatív
HHF 36 (J)	PL/24770305/WE	Sertés cevapcsicsa védőgázos cs.	pozitív	
HHF 37 A	PL/24770305/WE	Sertésstarja szeletek, vákuumcs.	pozitív	negatív
HHF 37 B	PL/24770305/WE	Sertésstarja szeletek, vákuumcs.	pozitív	negatív
HHF 38	HU/62/EK	Sertésstarja, gyorspácolt, védőgázos cs.		negatív
HHF 39	HU/62/EK	Sertéskaraj,gyorspácolt,védőgázos cs.		negatív
HHF 40	HU/62/EK	Sertéskaraj,gyorspácolt,védőgázos cs.		negatív
HHF 41	HU/62/EK	Sertéskaraj,gyorspácolt,védőgázos cs.		negatív
HHF 42	SI/816/ES	Csevapcsicsa darált sertés és marhahús, védőgázos cs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 43	SI/816/ES	Csevapcsicsa darált sertés és marhahús, védőgáz cs.		negatív
HHF 44	HU/1163/EK	Szarvas (lapocka, nyakhús, szegyfej) előhűtött, vákuumcs.		negatív
HHF 44 (J)	HU/1163/EK	Szarvas (lapocka, nyakhús, szegyfej) előhűtött, vákuumcs.	negatív	
HHF 45	UK/SM 003/EC	Sertés császárszalonna,gy orspácolt,védőgáz cs.		negatív
HHF 46	DE/EV 27/EG	Füstölt serteshús,érlelés-szabályozó,védőgáz as cs.		negatív
HHF 47	SK/63/ES	Vastagkolbász,érlelés-szabályozó,védőgáz as cs.		negatív
HHF 48	DE/EV 27/EG	Sertés felvágott, érlelés szabályozó, védőgáz csom.		negatív
HHF 49 (T)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász,füstölt		negatív
HHF 49 (B)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász,füstölt		negatív
HHF 50 (T)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász,füstölt		negatív
HHF 50 (B)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász,füstölt		negatív
HHF 51 (T)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász,füstölt		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 51 (B)	HU/106/EK	Sertés grillkolbász, füstölt		negatív
HHF 52	HU/1126/EK	Házi szalonna, füstölt, vák uumcsomag.		negatív
HHF 53 (T)	DE/EV 1050/EG	Fehérkolbász		negatív
HHF 53 (B)	DE/EV 1050/EG	Fehérkolbász		negatív
HHF 54 (T)	DE/ST 00809/EG	Grillkolbász		negatív
HHF 54 (B)	DE/ST 00809/EG	Grillkolbász		negatív
HHF 55	HU/6/EK	Karaj, védőgázos csom.		negatív
HHF 56	HU/779/EK	Kolozsváriszalonna nyers, gyorspác, vák uumcsom.		negatív
HHF 57	HU/1360/EK	Sertés darált hús (30% zsír) védőgázos csomagolás.		negatív
HHF 57 (J)	HU/1360/EK	Sertés darált hús (30% zsír) védőgázos csomagolásban	pozitív	
HHF 58	HU/62/EK	Darált sertéshús védőgázos csomagolásban		negatív
HHF 58 (J)	HU/62/EK	Darált sertéshús védőgázos csomagolásban	pozitív	
HHF 59	HU/1126/EK	Bacon, vákuumcsomagolt		negatív
HHF 60	HU/1163/EK	Vaddisznó comb, csont, lábszár vákuumcsomagolt		negatív
HHF 60 (J)	HU/1163/EK	Vaddisznó comb, csont, lábszár vákuumcsomagolt	negatív	

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 61	HU/1163/EK	Szarvasgerinc csont nélkül vákuumcs.		negatív
HHF 61 (J)	HU/1163/EK	Szarvasgerinc csont nélkül vákuumcs.t	negatív	
HHF 62_1	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 62_2	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 62_3	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 62_4	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 62_4 (J)	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.	negatív	
HHF 62_5	HU/115/EK	Friss nyúl máj. Egalizált. Skin csomagolásban.		negatív
HHF 63	AT/61885/EG	Sertésmáj		negatív
HHF 63 (J)	AT/61885/EG	Sertésmáj	pozitív	
HHF 64	HU/510/EK	Csevapcsicsa védőgáz cs.		negatív
HHF 65 (T)	HU/510/EK	Grillkolbász, vákuumcsom.		negatív
HHF 65 (B)	HU/510/EK	Grillkolbász, vákuumcsom.		negatív
HHF 66 (T)	AT/61883/EG	Grillkolbász		negatív
HHF 66 (B)	AT/61883/EG	Grillkolbász		negatív
HHF 67	HU/5/EK	Vastagkolbász, füstölt, érlelés-szabályozó, védőgáz cs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 68	DE/N17568/EG	Bacon,védőgáz cs..		negatív
HHF 69	HU/5/EK	Vastagkolbász, szárításos érlelés, védőgáz cs.		negatív
HHF 70	HU/86/EK	Vastagkolbász,szártásos érlelés, védőgáz cs.		negatív
HHF 71	HU/61/EK	Bacon,gyorspác,füstölt,vákuumcsom.		negatív
HHF 72 (T)	AT/61883/EG	Grillkolbász füstölt, sertés		negatív
HHF 72 (B)	AT/61883/EG	Grillkolbász füstölt, sertésl		negatív
HHF 73	DE/EV 65/EG	Feketeerdei sonka, nyers, füstölt, lassan pácolt, sertéscombból védőgáz cs.		negatív
HHF 74	HU/62/EK	Csülök, csont nélkül, vákuumcs.t		negatív
HHF 74 (J)	HU/62/EK	Csülök, csont nélkül, vákuumcs.	negatív	
HHF 75	HU/57/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 75 (B)	HU/57/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 75 (T)	HU/57/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 75 (T)	HU/57/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 75 (B)	HU/57/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (T)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (B)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (T)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (B)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (T)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (B)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)		negatív
HHF 76 (J)	HU/6/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májas hurka, véres hurka)	pozitív	

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 77 (T)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (B)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (T)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (B)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (T)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (B)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)		negatív
HHF 77 (J)	HU/514/EK	Disznótoros (sütnivaló kolbász, májás hurka, véres hurka)	negatív	
HHF 78	HU/213/EK	Sózott sertés vékonybél		negatív
HHF 79	HU/510/EK	sertés zsírszalonna védőgáz csomagolásban		negatív
HHF 80	HU/510/EK	Sertés pörkölt (kockázott sertés comb, lapocka, karaj) védőgáz cs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 80 (J)	HU/510/EK	Sertés pörkölt hús (kockázott sertés comb, lapocka, karaj) védőgázas cs.	negatív	
HHF 81	HU/510/EK	sertés combsteak, védőgázas cs.		negatív
HHF 81 (J)	HU/510/EK	sertés combsteak, védőgázas cs.	pozitív	
HHF 82	HU/510/EK	Sertés oldalas, védőgázas cs.		negatív
HHF 82 (J)	HU/510/EK	Sertés oldalas, védőgázas cs.	pozitív	
HHF 83	HU/62/EK	Sertés húsgolyó védőgázas cs.		negatív
HHF 84	HU/62/EK	Sertés húsgolyó védőgázas cs.		negatív
HHF 85	HU/1360/EK	Sertés lapocka, védőgázas cs.		negatív
HHF 85 (J)	HU/1360/EK	Sertés lapocka, védőgázas cs.	pozitív	
HHF 86	PL/24770305/WE	Sertés csülök, védőgázas cs.		negatív
HHF 86 (J)	PL/24770305/WE	Sertés csülök, védőgázas cs.	negatív	
HHF 87	PL/24770305/WE	Sertés tarja, vákuumcs.		negatív
HHF 87 (J)	PL/24770305/WE	Sertés tarja, vákuumcs	negatív	
HHF 88 (T)	PL/24770305/WE	nyerskolbász védőgázas csomagolásban		negatív
HHF 88 (B)	PL/24770305/WE	nyerskolbász védőgázas csomagolásban		negatív
HHF 89 (T)	HU/354/EK	Hurka csomag (májás hurka, véres hurka), vákuumcs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 89 (B)	HU/354/EK	Hurka csomag (májás hurka, véres hurka), vákuumcs.		negatív
HHF 89 (T)	HU/354/EK	Hurka csomag (májás hurka, véres hurka), vákuumcs.		negatív
HHF 89 (B)	HU/354/EK	Hurka csomag (májás hurka, véres hurka), vákuumcs.		negatív
HHF 89 (J)	HU/354/EK	Hurka csomag (májás hurka, véres hurka), vákuumcs.	negatív	
HHF 90	HU/354/EK	nyers comb sonka, vákuumcs.		negatív
HHF 91 (B)	SK/15/ES	Kolbász, füstölt, védőgázas cs.		negatív
HHF 91 (T)	SK/15/ES	Kolbász, füstölt, védőgázas cs.		negatív
HHF 92 (B)	HU/96/EK	Kolbász, füstölt, védőgázas cs.		negatív
HHF 92 (T)	HU/96/EK	Kolbász, füstölt, védőgázas cs.		negatív
HHF 93 (B)	HU/5/EK	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 93 (T)	HU/5/EK	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 94 (B)	HU/96/EK	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 94 (T)	HU/96/EK	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 95 (B)	ES/10.01934/GE/CE	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 95 (T)	ES/10.01934/GE/CE	Kolbász, védőgázas cs.		negatív
HHF 96	HU/86/EK	Szárazáru, védőgázasc.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 97	HU/86/EK	Sertés szűzpecsenye vákuumcs.	pozitív	negatív
HHF 97 (J)	HU/62/EK	Sertés szűzpecsenye vákuumcs.		
HHF 98 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 98 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 99 (T)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 99 (B)	HU/173/EK	Disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 100 (T)	HU/6/EK	Sertés hurkacsomag védőgázcs cs.		negatív
HHF 100 (B)	HU/6/EK	Sertés hurkacsomag védőgázcs cs.		negatív
HHF 100 (T)	HU/6/EK	Sertés hurkacsomag védőgázcs cs.		negatív
HHF 100 (B)	HU/6/EK	Sertés hurkacsomag védőgázcs cs.		negatív
HHF 101 (T)	HU/173/EK	disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 101 (B)	HU/173/EK	disznótoros védőgázcs cs.		negatív
HHF 102	HU/62/EK	Sertés darálthús (30%) vákuumcs.		negatív
HHF 102 (J)	HU/62/EK	Sertés darálthús (30%) vákuumcs.	pozitív	
HHF 103	HU/1360/EK	Sertés darálthús (30%) vákuumcs.		negatív
HHF 103 (J)	HU/1360/EK	Sertés darálthús (30%) vákuumcs.	pozitív	
HHF 104	HU/1360/EK	Sertés karaj, vákuumcs.		negatív

Minta sorszáma	Állategészségügyi jel	Élelmiszer típusa	Elisa teszt eredmény	PCR eredmény
HHF 104 (J)	HU/1360/EK	Sertés karaj, vákuumcs.	pozitív	
HHF 105	HU/1360/EK	Sertés darálthús (7%) vákuumcs.		negatív
HHF 105 (J)	HU/1360/EK	Sertés darálthús (7%) vákuumcs.	pozitív	
HHF 106	HU/62/EK	Sertéskaraj védőgáz cs.		negatív
HHF 106 (J)	HU/62/EK	Sertéskaraj védőgáz cs.	pozitív	
HHF 107	HU/1360/EK	Sertés darálthús (20%) vákuumcs.		negatív
HHF 107 (J)	HU/1360/EK	Sertés darálthús (20%) vákuumcs.	pozitív	
HHF 108	HU/106/EK	Tokaszalonna		negatív
HHF 109	CZ/185/ES	Vaddisznóhús		negatív
HHF 110	CZ/185/ES	Vaddisznóhús		negatív

12. Nyilatkozat

Témavezetői ellenjegyzés

Alulírott Dr. Forgách Petra igazolom, hogy Makkai Enikő „A hepatitis E vírus élelmiszer-biztonsági jelentőségének vizsgálata PCR és ELISA módszerrel állati eredetű élelmiszerekben” című diplomamunkáját ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom.

Budapest, 2021. április 28.


Dr. Forgách Petra
témavezető neve és aláírása



Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék