

**Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola**

**Sertéscirco- és parvovírusok fertőzésdinamikai
és összehasonlító genetikai vizsgálata
nagy létszámú sertésállományokban**

PhD-értekezés

Készítette:

Igriczi Barbara

2025

Témavezető:

.....

Dr. Balka Gyula

Állatorvostudományi Egyetem

Patológiai Tanszék

témavezető

Készült 8 példányban. Ez a n. sz. példány.

.....

Igriczi Barbara

Tartalomjegyzék

1	Ábrajegyzék	4
2	Rövidítések jegyzéke	5
3	Összefoglaló	7
4	Bevezetés és célkitűzések	9
5	Irodalmi áttekintés	10
5.1	Klasszifikáció és genomszerveződés	10
5.1.1	A <i>Circoviridae</i> család	10
5.1.2	A sertéscircovírusok.....	11
5.1.3	A <i>Parvoviridae</i> család	13
5.1.4	A sertésparvovírusok	15
5.2	Eredet és evolúció, genotípusok.....	16
5.2.1	Sertéscircovírusok	16
5.2.2	Sertésparvovírusok.....	19
5.3	Epidemiológia és terjedés	21
5.3.1	A sertéscircovírusok elterjedtsége	21
5.3.2	A sertésparvovírusok elterjedtsége.....	22
5.4	A PCV-k és PPV-k kórokozó képessége.....	23
5.4.1	Sertéscircovírusokhoz köthető kórképek	23
5.4.2	Sertésparvovírusokhoz köthető kórképek.....	27
5.5	Társfertőzések jelentősége.....	28
5.6	Diagnosztika, megelőzés és védekezés.....	31
5.6.1	Sertéscircovírusok	31
5.6.2	Sertésparvovírusok.....	32
6	Anyagok és módszerek.....	34
6.1	Mintagyűjtés	34
6.2	Mintafeldolgozás, DNS-kivonás.....	36
6.3	qPCR	36
6.4	Szekvenciameghatározás.....	39
6.5	Filogenetikai analízis	42
6.6	Statisztikai elemzés	43
7	Eredmények.....	45
7.1	A vizsgált sertéstelepek általános jellemzői és termelési paraméterei	45
7.2	A sertéscircovírusok földrajzi elterjedtsége és prevalenciája a magyarországi sertésállományokban.....	47
7.3	A sertésparvovírusok földrajzi elterjedtsége és prevalenciája a magyarországi sertésállományokban.....	48

7.4	Egyes vírusok előfordulása a különböző mintatípusokban.....	49
7.5	PCV-k és PPV-k előfordulása az egyes korcsoportokban	51
7.6	A sertéstartó telepek termelési paraméterei és az egyes vírusok előfordulása közötti összefüggések	56
7.7	A hazai PCV- és PPV-törzsek genetikai változatossága.....	57
7.7.1	A sertéscircovírusok filogenetikai vizsgálata.....	57
7.7.2	A sertésparvovírusok filogenetikai vizsgálata	64
8	Megbeszélés	83
8.1	A vírusok előfordulása	83
8.2	A korosztályok fertőzősközvetítő szerepe.....	89
8.3	A vírusfertőzések termelési mutatókra gyakorolt hatása	92
8.4	Filogenetikai elemzés eredményei	93
8.4.1	A PCV-k genetikai jellemzői	93
8.4.2	A PPV-k genetikai jellemzői	96
9	Új tudományos eredmények	101
10	Irodalomjegyzék:	102
11	A doktori kutatás eredményeinek közlései	124
11.1	A doktori értekezés témájában, lektorált és impakt faktoros tudományos folyóiratban megjelent közlemények.....	124
11.2	A doktori értekezés témájában tartott előadások, poszterprezentációk tudományos konferenciákon	124
11.3	A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó tudományos közlemények, előadások, poszterprezentációk tudományos konferenciákon	125
	Köszönetnyilvánítás	127
	Mellékletek	128

1 Ábrajegyzék

1. ábra. A sertéscircovírusok genomjának sematikus ábrája.....	12
2. ábra. A sertésparvovírusok genetikai kapcsolatát szemléltető filogenetikai fa.	14
3. ábra. A sertéscircovírusok genetikai kapcsolatát szemléltető filogenetikai fa.	19
4. ábra. A felmérésünkben résztvevő magyarországi sertéstelepek elhelyezkedése Magyarország vaktérképén	35
5. ábra. A PCV2- és PCV3-pozitív telepek földrajzi elhelyezkedése.....	47
6. ábra. A PPV1–PPV8-pozitív telepek földrajzi elhelyezkedése.	48
7. ábra. A vizsgált vírusok előfordulása és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző mintatípusokban.	51
8. ábra. A PPV1–PPV8 prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző korcsoportokban.	53
9. ábra. A PCV2 (a) és PCV3 (b) prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző korcsoportokban.	54
10. ábra. A vizsgált vírusok prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a rágókötélminták esetében.	55
11. ábra. A PCV2 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.	59
12. ábra. A magyarországi PCV2-törzsek ORF2 aminosav-szekvenciáinak illesztése a PCV2a–PCV2h genotípusú törzsek referencia-szekvenciáihoz.	60
13. ábra. A PCV3 teljes genomszekvenciák filogenetikai elemzése.	62
14. ábra. A magyarországi PCV3 törzsek ORF2 aminosav-szekvenciáinak illesztése a PCV3a és PCV3b genotípusú törzsek referencia-szekvenciáihoz.	63
15. ábra. A PPV1 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.	65
16. ábra. A magyarországi PPV1-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	66
17. ábra. A PPV2 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.	68
18. ábra. A magyarországi PPV2-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	69
19. ábra. A PPV3 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.	71
20. ábra. A magyarországi PPV3-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	72
21. ábra. A PPV4 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.	73
22. ábra. A magyarországi PPV4-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	74
23. ábra. A PPV5 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.	75
24. ábra. A magyarországi PPV5-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	76
25. ábra. A PPV6 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.	77
26. ábra. A magyarországi PPV6 törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	78
27. ábra. A PPV7 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.	79
28. ábra. A magyarországi PPV7-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemése.	80
29. ábra. A PPV8 részleges VP2 (ORF2) szekvenciák filogenetikai elemzése.	81
30. ábra. A magyarországi PPV8-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.	82
31. ábra. A fertőzött állományok földrajzi elhelyezkedése, kiemelve az előforduló vírusok számát.	84
32. ábra. Összesített eredmények a PCV- és PPV-pozitív magyarországi telepek ($n = 27$) (a), és minták ($n = 843$) (b) előfordulási arányáról.	85

2 Rövidítések jegyzéke

ADG	average daily gain, átlagos napi testtömeg-gyarapodás
bp	basepair, bázispár
Cap	capsid protein, kapszidfehérje
CD/CD	cesarean-derived, colostrum-deprived, császármetszéssel született, kolosztrumot nem kapott
CPV	canine parvovirus, kutyparvovírus
ChPV	chicken parvovirus, csirkeparvovírus
CSFV	classical swine fever virus, klasszikus sertéspestis vírus
Ct	cycle threshold, ciklus küszöbérték
CT	congenital tremors, reszketőkór
CRESS	circular replication-associated protein (Rep)-encoding single stranded, cirkuláris, replikáció-asszociált fehérjét kódoló, egyszálú
DNS	dezoxi-ribonukleinsav
EqPV-H	equine parvovirus hepatitis, lóparvovírus-hepatitis
FCR	Feed Conversion Ratio, takarmányhasznosulás
FPV	feline parvovirus, macskaparvovírus
GAG	glükózaminoglikán
GPV	goose parvovirus, libaparvovírus
GTR	General Time Reversible
IL	interleukin
IR	intergenic region, intergénikus régió
MKPV	mouse kidney parvovirus, egérvese-parvovírus
ML	Maximum-Likelihood
MVM	minute virus of mice, egerek minute vírusa
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NJ	Neighbor-Joining
NP	nucleoprotein, nukleoprotein
NS	non-structural, nem szerkezeti
OR	odds ratio, esélyhányados
ORF	open reading frame, nyílt leolvasási keret
PCR	polymerase chain reaction, polimeráz láncreakció

PCV	porcine circovirus, sertéscircovírus
PCV2-ED	PCV2 enteric disease, PCV2 okozta emésztőszervi betegség
PCV2-LD	PCV2 lung disease, PCV2 okozta tüdőbetegség
PCV2-RD	PCV2 reproductive disease, PCV2 okozta reprodukciós zavar
PCV2-SD	PCV2 systemic disease, PCV2-höz köthető szisztémás betegség
PCV2-SI	PCV2 subclinical infection, PCV2 szubklinikai fertőzés
PCV3-RD	PCV3 reproductive disease, PCV3 okozta reprodukciós zavar
PCV3-SD	PCV3 systemic disease, PCV3-hoz köthető szisztémás betegség
PCVD	porcine circovirus diseases, sertéscircovírus-betegségek
PDNS	porcine dermatitis and nephropathy syndrome, sertés dermatitis és nephropathia szindrómája
PEDV	porcine epidemic diarrhea virus, sertés epidémiás hasmenés vírus
PMWS	postweaning multisystemic wasting syndrome, sertések választás utáni sorvadása
PRCV	porcine respiratory coronavirus, sertések légzőszervi koronavírus
PRDC	porcine respiratory disease complex, sertés légzőszervi betegségkomplex
PRRS	porcine reproductive and respiratory syndrome, sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómája
PRRSV	porcine reproductive and respiratory syndrome virus, sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómájának vírusa
PRV	pseudorabies virus, Aujeszky-betegség vírusa
Rep	replikáz
RNS	ribonukleinsav
RpPV	red panda parvovirus, vöröspanda-parvovírus
SAT	small alternatively translated protein, kisméretű alternatív módon transzlálódó fehérje
swIAV	swine influenza A virus, sertésinfluenza A vírus
SMEDI	stillbirth, mummification, embryonic death, infertility; koraszülés, mumifikáció, embrió halál, terméketlenség
TiPV	tilapia parvovirus, tilápiaparvovírus
VP	viral protein, szerkezeti fehérje

3 Összefoglaló

A sertéscircovírusok (porcine circovirus, PCV) és -parvovírusok (porcine parvovirus, PPV) kisméretű DNS-vírusok, amelyek világszerte előfordulnak a sertésállományokban. Az általuk okozott fertőzések jelentős gazdasági károkat okozhatnak, így az ellenük való hatékony védekezés rendszeres vakcinázást és ellenőrző vizsgálatokat igényel.

A sertéscircovírus 2-es típusát (porcine circovirus 2, PCV2) az általa okozott szisztémás, sorvadásos megbetegedés (PCV2 systemic disease, PCV2-SD) kapcsán azonosították világszerte, Magyarországon először 1999-ben írtak le. Jellemző tünetei közé tartozik a lesóványodás, hasmenés, sárgaság és a nyirokcsomók jelentős duzzanata. A PCV2-fertőzés különböző szisztémás, reprodukciós, légzőszervi, ill. enterális kórképek kialakulásáért is felelős lehet; ezeket összefoglaló néven sertéscircovírusos betegségeknek nevezünk (PCV2 diseases, PCVD). A vírusnak eddig nyolc különböző genotípusa (PCV2a–h) ismert, de a jelenleg elérhető vakcinák a PCV2a genotípuson alapulnak. 2016-ban az Egyesült Államokban azonosítottak egy harmadik sertéscircovírust (PCV3) PDNS-ben elhullott állatok, valamint vetélt malacok gyulladt szívizom- és egyéb szervmintáiban. A PCV2 mellett a PCV3-fertőzést is összefüggésbe hozták már reprodukciós, valamint szisztémás betegségekkel, a vírust pedig nemrégiben Magyarországon is kimutatták. Kínai kutatók súlyos légzőszervi megbetegedések és hasmenéses esetek vizsgálata során 2020-ban leírtak egy új circovírustípust is, amelyet PCV4-nek neveztek el.

Az első ismert sertésparvovírus, a sertésparvovírus 1 (porcine parvovirus 1, PPV1) a sertések szaporodásbiológiai rendellenességeinek egyik fő okozója. Süldők és kocák PPV1-fertőzése halvaszületést, mumifikációt, magzati elhalálozást és meddőséget okozhat. Az elmúlt két évtizedben 7 új PPV-t írtak le, amelyeket PPV2–PPV8-ként neveztek el. Előfordulásukat már világszerte több országban igazolták, de klinikai, illetve gazdasági jelentőségük nagyrészt ismeretlen. Magyarországi állományok vizsgálata során eddig a PPV2, PPV3, és PPV4 jelenlétét írták le.

2020–2023 között egy átfogó keresztmetszeti mintavételezési protokoll alkalmazásával 27 magyarországi, és két szlovákiai sertéstartó telepről gyűjtöttünk vérsavó-, rágókötel-, és herélésifolyadék-mintákat, amelyeket a PCV2–4 és PPV1–8 vírusok kimutatására optimalizált qPCR-módszerrel vizsgáltunk. Mindegyik telepen kimutattuk legalább egy vírus jelenlétét. Vérsavóminták esetén, telepenként átlagosan 100 mintát gyűjtöttünk 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18 hetes állatoktól, továbbá süldőktől, kétszer és négyszer fiatal kocaiktól, amelyeket 5-ös poolokban vizsgáltunk. Rágókötelmintákat 8–12 és 18–20 hetes állatoktól gyűjtöttünk. A felmérésünkben résztvevő hazai sertéstartó telepek 93%-ában (25/27) legalább egy PCV, míg

96%-ában (26/27) legalább egy PPV megtalálható volt. Egy telepen kizárólag a PPV8-at detektáltuk, míg a többi telepen több vírus együttesen fordult elő: négy állományban a PCV4 kivételével mind a tíz vizsgált PCV és PPV egyidejű cirkulációját azonosítottuk.

A vizsgált mintatípusok között jelentős eltéréseket találtunk a vírusok előfordulásában és a PCV-k és PPV-k fertőzésdinamikája is eltérően alakult az egyes korcsoportokban. A PPV-k esetében a 14–18 hetes hízósertések vérsavómintái, míg a PCV-k esetében inkább a 4–6 hetes választott malacok vérsavómintái bizonyultak a legalkalmasabbnak a vírusok szűrésére. A vizsgált elegyminták közül a rágókötélminták diagnosztikai szempontból megbízhatóak és kiválóan alkalmasak voltak a PPV-k kimutatására, míg a herélésifolyadék-minták elsősorban a PCV3 szűrésére voltak használhatóak.

Eredményeink alapján egyes parvovírusok jelenléte összefügghet a vizsgált telepek termelési mutatóinak átlag alatti értékeivel. A statisztikai elemzés során a PPV1 mellett a PPV5 és a PPV8 esetében merült fel, hogy negatív hatással lehetnek az olyan reprodukciós paraméterekre, mint fialási és vemhesülési arányok, valamint a született malacok száma.

A circovírusok esetében a filogenetikai vizsgálataink alapján a meghatározott PCV2 szekvenciák a PCV2d genotípusba tartoztak, amelyre a PCV2b-hez viszonyítva korai viraemia kialakítása és megnövekedett virulencia jellemző. A magyarországi PCV3-törzsek a PCV3a genotípusba sorolhatóak és igen nagyfokú egyezést mutattak az eddig meghatározott különböző földrajzi eredetű szekvenciákkal, jelezve a PCV3 mérsékelt evolúciós mutációs rátáját a PCV2-hez képest.

A magyarországi PPV1-törzsek a PPV1a és PPV1b genotípusokba sorolhatók, amelyek közé a 27a és 143a típusú, igen virulens vírustörzsek tartoznak. Az egyik PPV1-pozitív telepről származó szekvenciánk pedig evolúciós átmenetet képezhetnek a főképp ázsiai törzsekre jellemző PPV1c és az európai PPV1b genotípusok között. Az újonnan leírt PPV-k esetén jelenleg nincsen egységes klasszifikációs rendszer. A filogenetikai elemzéseink részét képező szekvenciák kettő–négy klaszterbe tömörültek, amelyek (az elérhető szekvenciák függvényében) sikeresen tükrözték a jellegzetes aminosavmutációk jelenlétét, illetve a szekvenciák földrajzi eredetét. Érdekes módon, a magyarországi PPV2 és PPV7 szekvenciánk közeli kapcsolatot mutattak kínai és amerikai törzsekkel, ami különböző genetikai vonalak meglétét jelzi. Genetikai változatosságuk és gyorsabb evolúciós ütemük arra utal, hogy ezek a vírusok különösen dinamikus fejlődhetnek, míg a többi új PPV esetében az eredményeink lassabb evolúciós ütemet jeleznek.

4 Bevezetés és célkitűzések

Az elmúlt évtizedekben a sertésenyésztés jelentős átalakuláson ment keresztül, amelynek során a kisebb, hagyományos gazdaságok helyét fokozatosan átvették a nagylétszámú állományokat kezelő, intenzív termelésre alapozó teleprendszerek. Ez a fejlődés lehetővé tette a termelési hatékonyság növelését, ugyanakkor megteremtette a feltételeket a fertőző ágensek gyorsabb terjedéséhez, új, virulensebb kórokozók, valamint gyakori társfertőzések és különböző multifaktoriális betegségek megjelenéséhez. A kórokozók gyors terjedése és a klinikai tünet nélküli szubklinikai fertőzések gyakori előfordulása új kihívásokat jelentenek elterjedésük megelőzésében, felszámolásukban és a hatékony védekezési stratégiák kidolgozásában. Munkám során két olyan víruscsoportot vizsgáltam, amelyek világszerte előfordulnak a sertésállományokban és igen nagy gazdasági jelentőségűek. Ezek a sertéscircovírusok és -parvovírusok, amelyek legjelentősebb képviselői, a PCV2 és PPV1 már évtizedek óta ismert sertéspatogének. A kétezres évek eleje óta a molekuláris biológiai és bioinformatikai módszerek rohamos fejlődésével két új PCV-t (PCV3, PCV4) és hét új PPV-t (PPV2–PPV8) azonosítottak. Ezeknek az új vírusoknak a jelenlétét már világszerte leírták, de a kórokozóképességük és a sertésegészségügyre gyakorolt hatásuk jelenleg ismeretlen.

Munkám során célul tűztem ki a PPV1–8 és a PCV2–4 jelenlétének és elterjedtségének felmérését a hazai sertésállományokban. A vírusok genetikai változatosságának elemzésével átfogó képet szeretnék alkotni a hazai vírustörzsek genetikai diverzitásáról és filogenetikai kapcsolatairól. Céljaim:

- (i) a PPV1–8 és PCV2–4 kimutatása különböző magyarországi sertéstartó telepekről származó vérsavó-, rágókötél- és herélésifolyadék-mintákban,
- (ii) a PPV1–8 és PCV2–4 prevalenciájának feltérképezése a magyarországi sertéspopulációban,
- (iii) a vírusok által okozott fertőzés állományon belüli dinamikájának és az egyes korcsoportok fertőzőképességének szerepének feltérképezése,
- (iv) a hazai PPV- és PCV-törzsek részleges vagy teljes genomszekvenciájának meghatározása és filogenetikai vizsgálata.

5 Irodalmi áttekintés

5.1 Klasszifikáció és genomszerveződés

A Nemzetközi Vírustaxonómiai Bizottság (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV, <http://ictv.global/report>) által elfogadott aktuális osztályozási rendszer alapján kilenc egyszálú DNS- (single stranded, ssDNS) genommal rendelkező víruscsaládot különítünk el, amelyek között szerepelnek a dolgozatom témáját képező *Circoviridae* és *Parvoviridae* családok is. A circo- és parvovírusok a legkisebb ismert vírusok közé tartoznak, amelyek súlyos klinikai tünetekkel járó megbetegedéseket okozhatnak, és világszerte jelentős gazdasági károkat idézhetnek elő (Parke & Burgess, 1993; Alarcon és mtsai, 2013).

5.1.1 A *Circoviridae* család

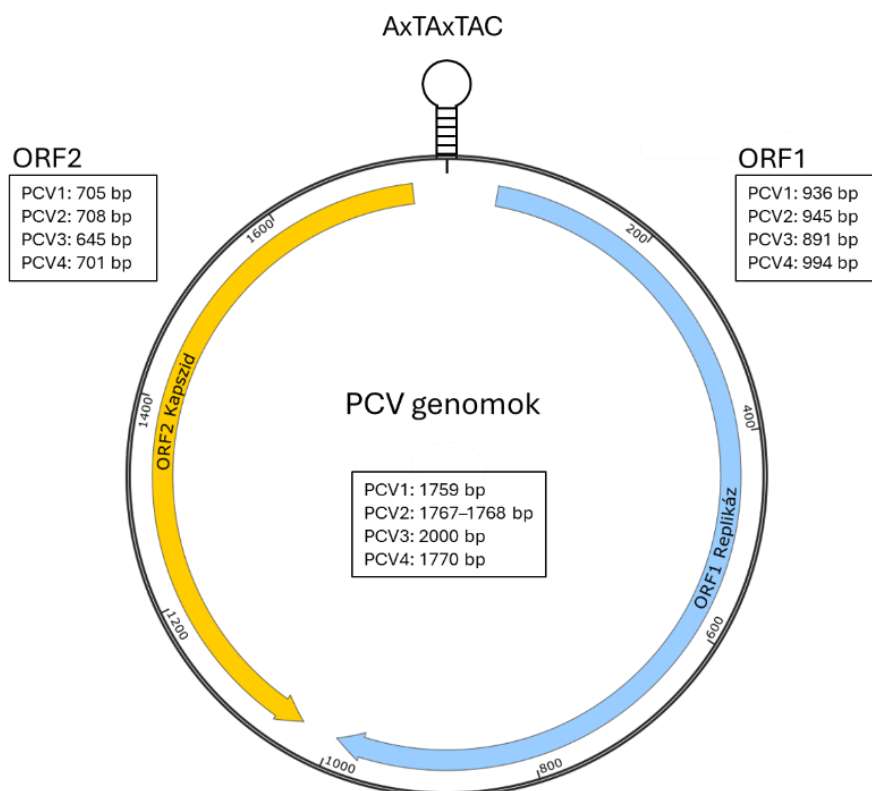
A *Circoviridae* családba kisméretű, 15–25 nm átmérőjű, ikozaéder szimmetriájú, burok nélküli DNS-vírusok tartoznak. Különböző prokarióta, növény vagy állat gazdákat megfertőző vírusok mellett a *Circoviridae* család tagjai is a CRESS DNS (circular replication-associated protein (Rep)-encoding ssDNA) vírusok közé tartoznak, amelyek az ismert legkisebb, önállóan replikálódni képes, kapsziddal rendelkező állati kórokozóknak tekinthetők (Capozza és mtsai, 2022). Genomjuk egyszálú cirkuláris DNS, specifikus konzervált replikációs fehérjét (Rep fehérjét) kódol, amely távoli rokonságban áll a baktériumok és az archaeák CRESS vírusainak Rep fehérjéivel, ami a víruscsalád ősi eredetére enged következtetni (Kazlauskas és mtsai, 2019).

A *Circoviridae* családon belül a vírusgenom-szerveződés alapján két nemzetséget különítünk el, ezek a *Circovirus* és a *Cyclovirus*. Ez utóbbi nemzetségbe különböző emlősöket, madarakat, illetve ízeltlábúakat megfertőző vírusok tartoznak, amelyeknek az irodalmi adatok alapján az állatorvostani jelentősége kisebb (Rosario és mtsai, 2017). A *Circovirus* nemzetség tagjai viszont súlyos megbetegedéseket idézhetnek elő, különösen madarak és sertések esetében. Az első emlősökben leírt circovírus, egy sertésvese-eredetű sejtvonalban talált PCV volt (Tischer és mtsai, 1982), amelyet később PCV1-ként neveztek el (Allan és mtsai, 1998; Morozov és mtsai, 1998). Egészen 2010-ig a sertések voltak az egyedüli ismert emlősök, amelyekben circovírus-fertőzést írtak le. A modern, ún. újgenerációs szekvenciameghatározási technológiák megjelenésével azonban sok más fajban is kimutattak circovírusokat, ideértve a denevéreket (X. Ge és mtsai, 2011; Dhandapani és mtsai, 2021), kutyákat (Kapoor és mtsai, 2012), fekete medvéket (Alex és mtsai, 2020), nyérceket (Lian és mtsai, 2014), tevéket (Woo és mtsai, 2014), csimpánzokat (Blinkova és mtsai, 2010) és embereket is (L. Li és mtsai, 2010). A *Circovirus* genusba továbbá számos madárfajból és halakból, illetve kételtűekből (Tarján és mtsai, 2014) kimutatott vírusok tartoznak. Különösen

nagy gazdasági károkat okoznak a galambpopulációkban, ahol főleg a fiatal egyedeket megfertőzve immunszuppressziót (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012), a papagájfélnél pedig csőr- és tollképződési zavart okozhatnak (Fogell és mtsai, 2016). Magyarországon őshonos halfajok, a márna és az európai harcsa esetében szintén jelentős gazdasági károkat okozhat a circovírus-fertőzés (Lőrincz és mtsai, 2011, 2012).

5.1.2 A sertéscircovírusok

Sertésekben eddig négy circovírust (PCV1–4) írtak le, amelyek genomja 1759 (PCV1), 1767–1768 (PCV2), 2000 (PCV3), illetve 1770 (PCV4) nukleotid hosszúságú. Genomszerkezetükre általánosságban jellemző két fő, ellentétes irányú nyílt leolvasási keret (open reading frame, ORF) jelenléte, amelyek közül a pozitív szálon elhelyezkedő ORF1 a vírusreplikációért felelős fehérjét vagy fehérjéket (Rep), a negatív szálon elhelyezkedő ORF2 pedig a kapszidfehérjéket kódolja (Cap) (1. ábra). Ezeket nem kódoló intergénikus régiók választják el, a két ORF régió 5' végénél az Ori-intergénikus régió (IR), 3' végüknél pedig a terminációs-IR található. Az Ori-IR a DNS-replikáció kiindulásának helye. Az itt található szárhurokstruktúra, egy 11 bázispár hosszú palindrom szárból és 10–12 nukleotid hosszú hurokrészből áll, amelynek része egy 8 bázispár hosszúságú, evolúciósan konzervált szakasz (AxTAxTAC) (Cheung, 2012). Ez az oktanukleotid motívum fontos szerepet játszik a vírusreplikációs ciklus megindításában, ami kettős szálú intermedierek kialakulásával, ún. rolling-circle replikációval történik (Cheung, 2012). Mivel a PCV-k nem rendelkeznek saját DNS-polimeráz enzimmal, így replikációjuk csak aktívan osztódó sejtekben lehetséges és szükséges hozzá a gazdaszervezet saját celluláris enzimeit (Tang és mtsai, 2013).



1. ábra. A sertéscircovírusok genomjának sematikus ábrája.

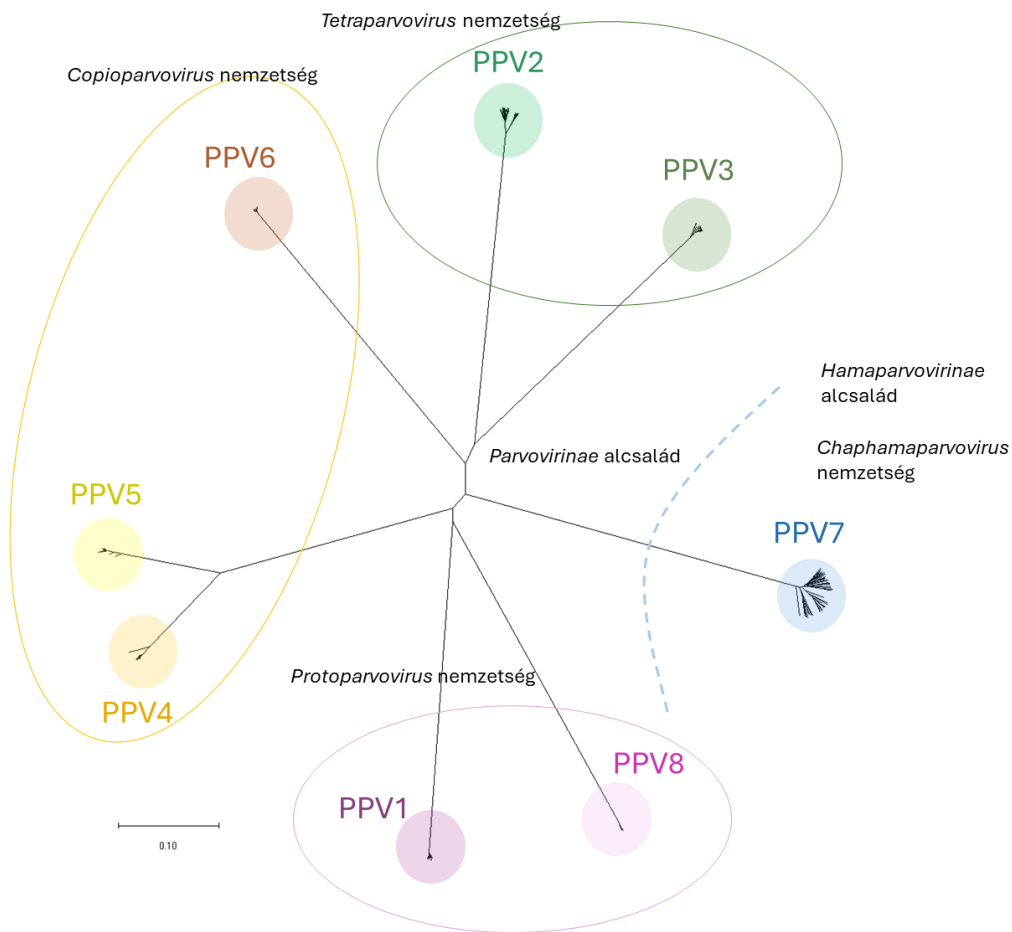
A rövid cirkuláris genom két jellemző ellentétes irányultságú ORF génje kékkel (ORF1) és sárgával (ORF2) jelölve látható, feltüntetve az egyes szakaszok hosszát (bázispár, bp). A replikációs origó a szárhurokrészben található, amelynek erősen konzervált oktanukleotid szakasza AxTAXTAC, ahol az 'x' a circovírusok esetében variábilis nukleotidot jelöl. A sertéscircovírusoknál ez a szakasz általában AGTATTAC. Az ábra a SnapGene szoftverrel készült (www.snapgene.com).

A circovírusok genomja a két fő ORF-en (ORF1, ORF2) kívül gyakran továbbiakat is tartalmaz, amelyek által kódolt fehérjék funkciója nem minden esetben ismert. A PCV2 genomja a jelenlegi ismeretek alapján összesen tizenegy ellentétes irányú ORF-et tartalmaz (D. Li és mtsai, 2018), amelyek közül az ORF3–ORF11 nem elengedhetetlen a vírusreplikációhoz, inkább a gazdasejt fehérjéivel történő interakciókért felelősek. Az ORF3 gén által kódolt fehérje például a fertőzött sejtekben apoptózist tud előidézni (W.-L. Lin és mtsai, 2011), míg az ORF4 által kódolt fehérje a programozott sejthalál mérséklésében, az ORF3 fehérjeexpresszió csökkentésében és a T-lymphocytá regulációjában játszik szerepet (He és mtsai, 2013). Az ORF5 által kódolt fehérje fokozhatja az interleukin- (IL) 6, IL-8 (CXCL8) és a COX-2 enzim expresszióját, így köze lehet a sejtszintű stressz indukálásához az endoplazmatikus retikulumban, amely autofágiához és apoptózishoz vezethet (Lv és mtsai, 2015). Az ORF6 fehérje feltehetően a kaszpázok és számos citokin expressziójának szabályozásában játszik szerepet a vírusfertőzött sejtekben (D. Li és mtsai, 2018).

A PCV-k közül a leghosszabb genommal rendelkező PCV3 esetében eddig három ORF szakaszt írtak le, amelyekből az ORF1 a replikációhoz szükséges fehérjét, az ORF2 pedig a kapszid felépítéséhez szükséges fehérjét kódolja. Az ORF3 pontos szerepe jelenleg ismeretlen (Fux és mtsai, 2018; Yuzhakov és mtsai, 2018), de mivel a *Circoviridae* családba tartozó vírusok esetében az ORF3 által kódolt fehérje gyakran apoptózis előidézésére képes (Y. Zhang és mtsai, 2020), így elképzelhető, hogy a PCV2-höz hasonlóan a PCV3 esetében is hasonló szerepe lehet ennek a fehérjének. A PCV4 genomjában szintén azonosították a kapszid felépítéséért és a replikációért felelős fehérjét kódoló két fő ORF szakaszt (H. Zhang és mtsai., 2020).

5.1.3 A *Parvoviridae* család

A *Parvoviridae* családba kisméretű, 23–28 nm átmérőjű, ikozaéder szimmetriájú, burok nélküli, lineáris, egyszálú DNS-genommal rendelkező vírusok tartoznak (Cotmore és mtsai, 2019). Ikozaéder formájú kapszidjukra jellemző, hogy 60 fehérjealegységből épülnek fel (Mietzsch és mtsai, 2019). A víruscsalád az egyes vírusok gazdaspecifitása alapján három alcsaládra oszlik, ezek a *Densovirinae*, a *Parvovirinae* és a *Hamaparvovirinae*. A *Densovirinae* alcsalád tagjai kizárólag ízeltlábúakat, a *Parvovirinae* tagjai gerinceseket fertőznek, a viszonylag újonnan leírt *Hamaparvovirinae* alcsaládba pedig mind ízeltlábú, mind gerinces patogének is tartoznak (Pénzes és mtsai, 2020). A parvovírusok közé kimagasló állatorvosi jelentőségű patogének is tartoznak, többek közt a kutyák súlyos bélgyulladását okozó kutyaparovírus (canine parvovirus, CPV) (Appel és mtsai, 1979) és a macskák fertőző bélgyulladásának kialakításáért felelős macskapánleukopénia-vírus (feline panleukopenia virus, FPV) (Studdert & Peterson, 1973). Madarak parvovírusai közül kiemelkedően fontos a Derzsy-féle betegség kórokozója, a libaparovírus (goose parvovirus, GPV) (Derzsy, 1967), illetve a csirkeparovírus (chicken parvovirus, ChPV), amely utóbbi bélgyulladást és emésztőrendszeri problémákat okozhat a fertőzött állatokban (Zsák és mtsai, 2008). Az első parvovírus-fertőzéshez köthető kórképek már a huszadik század első fele óta ismertek, ám az újgenerációs szekvenálási technológiák megjelenésével és a metagenomikai elemzések fejlődésével az elmúlt két évtizedben számos új parvovírust azonosítottak különböző állatokban. Sok esetben ezeknek az új vírusoknak csak a genomsekvenciája ismert és kórokozó képességük nem meghatározott, de vannak köztük igazoltan patogén parvovírusok is, mint például a lóparovírus-hepatitisz (equine parvovirus hepatitis, EqPV-H) kórokozója (Divers és mtsai, 2018), a tilápiaparovírus (tilapia parvovirus, TiPV) (Liu és mtsai, 2020), az egérvese-parovírus (mouse kidney parvovirus, MKPV) (Roediger és mtsai, 2018) vagy a vöröspanda-parovírus (red panda parvovirus, RpPV) (Alex és mtsai, 2018).



2. ábra. A sertésparvovírusok genetikai kapcsolatát szemléltető filogenetikai fa.

A törzsfá a GenBank-ban található 270 válogatott referencia PPV1–PPV8 teljes NS1 génszekvenciák analízisével, Neighbor-joining módszerrel a p-távolság modell használatával, 1000 bootstrap-ismétléssel készült a MEGAX programmal.

A sertésparvovírusoknak jelenleg nyolc genetikailag különböző típusát (PPV1-től PPV8-ig) ismerjük, amelyek közül hét a *Parvovirinae* alcsalád tagja. A *Parvovirinae* alcsalád összesen 11 nemzetségre oszlik, amelyek közül háromba tartoznak PPV-k. A PPV1 (*Protoparvovirus ungulate 1*) és PPV8 (*Protoparvovirus ungulate 4*) a *Protoparvovirus* nemzetséghez, PPV2 (*Tetraparvovirus ungulate 3*) és PPV3 (*Tetraparvovirus ungulate 2*) a *Tetraparvovirus* nemzetséghez, PPV4 (*Copiparvovirus ungulate 2*) és PPV6 (*Copiparvovirus ungulate 4*) pedig a *Copiparvovirus* nemzetséghez tartozik. A PPV7 (*Chaphamaparvovirus ungulate 1*) a *Hamaparvovirinae* alcsalád egyik tagja és azon belül a *Chaphamaparvovirus* nemzetségbe tartozik. A PPV5 még nem került hivatalos besorolásra, de mivel szoros genetikai rokonságban áll a PPV4-gyel, így feltételelesen a *Copiparvovirus* nemzetséghez van besorolva (Pénzes és mtsai, 2020) (2. ábra).

5.1.4 A sertésparvovírusok

A PPV-k genomja lineáris, 4,1 és 6,2 kilobázis közötti hosszúságú és a két végükön 120–200 bp hosszú palindrom végződéses hajtúszerű struktúrát alkotnak, amelyek a DNS-replikációhoz nélkülözhetetlenek (Bergeron és mtsai, 1993). A vírusreplikáció ún. „rolling hairpin” mechanizmussal történik, amely a circovírusokra jellemző „rolling circle” replikáció megfelelője lineáris genom esetén (Tattersall & Ward, 1976). A PPV vírusgenomok fő genetikai jellemzőit az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat. A PPV1–PPV8 genomok főbb jellemzőinek összefoglalása.

A GenBank akcessziós számok minden esetben az ICTV honlapján (<https://ictv.global/report/chapter/parvoviridae/parvoviridae>) feltüntetett referenciagenomokhoz tartoznak. Kivételt képez a PPV5, amely még nincsen hivatalosan besorolva, így itt az elsőként meghatározott teljes genomszekvencia van feltüntetve (Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013a). A nukleotid-szubsztitúciós ráták értékeinek forrása Chung és munkatársai 2020-ban megjelent publikációja (H.-C. Chung és mtsai, 2020).

Vírus	Referencia genomok	Teljes genom hossza (bp)	ORF1 bp	as	ORF2 bp	as	Egyéb kódoló régiók	szubsztitúciós ráta (nukleotidcsere/hely/év)
PPV1	L23427.1	5075	1986	662	2187	729	rövid, alternatív ORF: 68 as	$6,22 \times 10^{-5}$
PPV2	GU938300.1	5444	1986	662	3096	1032	-	$1,35 \times 10^{-4}$
PPV3	EU200677.1	5114	1911	637	2778	926	-	$8,16 \times 10^{-4}$
PPV4	GQ387499.1	5905	1674	558	2184	728	ORF3: 204 as	$4,70 \times 10^{-5}$
PPV5	JX896318.1	5516	1803	601	2973	991	-	$6,95 \times 10^{-5}$
PPV6	KX384823.1	5566	1986	662	3567	1189	-	$4,90 \times 10^{-4}$
PPV7	KU563733.1	4013	2016	672	1407	469	NP ORF: 220 as	$4,85 \times 10^{-3}$
PPV8	OP021638.1	4380	1803	601	2103	701	-	nem ismert

Genomjuk jellemzően két ORF régiót tartalmaz, amelyek közül a genom 5' végén elhelyezkedő ORF1 a vírus replikációjához szükséges, nem-strukturális fehérjéket (NS1, NS2 és a PPV1 esetében NS3 is) kódolja. Ezek közül az NS1 fehérje helikáz, illetve ATPáz aktivitású és képes apoptózist és sejtlízist indukálni az érintett sejtekben. Az NS2 fehérje ugyanarról a promoterről íródik át, de alternatív splicing révén poszttranszkripciósan módosul és elősegíti a vírusreplikáció során keletkezett vírusok kiszabadulását a sejtmagból, továbbá a PPV1 esetében kimutatták (Cotmore & Tattersall, 2014), hogy szerepet játszik az 1-es típusú interferonaktivitás csökkentésében (W. Lin és mtsai, 2013).

A vírusgenom 3' végéhez közelebb elhelyezkedő ORF2 gén a kapszidfehérjéket (VP1, VP2) kódolja, amelyek közül a rövidebb VP2 fehérje a nagyobb VP1 fehérje mRNS-

templátjának splicing-ja során jön létre. A PPV1 esetében a VP2 poszttranszlációs módosításával egy harmadik kapszidfehérje (VP3) is képződik (Bergeron és mtsai, 1996; Simpson és mtsai, 2002). Az ORF2 gén két szakasza kifejezett konzervált jellegű: a foszfolipáz A₂ domén, amely a vírus fertőzőképességéhez szükséges, illetve a kalciumkötő domén, amely a nukleáris lokalizációs jeleket tartalmazza. Az egyes PPV-k genomszekvenciáját összehasonlítva a két konzervált domén esetében jelentős különbségek figyelhetők meg, amelyek eltérő aminosavsorrendet eredményeznek (Lau és mtsai, 2008; Xiao, Halbur, és mtsai, 2013; Ni és mtsai, 2014). A PPV7-nek, a *Hamaparvovirinae* alcsaládra jellemzően, nincs foszfolipáz A₂ motívuma, a PPV4 pedig foszfolipáz A₂ és kalcium-kötő domént sem tartalmaz az ORF2 génen (Mietzsch és mtsai, 2019). Egyes PPV-knél egy harmadik ORF jelenlétét is leírták, amely jellemzően a két ORF között a genom közepén, vagy valamelyik ORF régióval átfedésben helyezkedik el. A PPV1 esetében ez a rövid, alternatív ORF a szerkezeti fehérjét kódoló ORF2 aminoterminális régiójával átfedésben található. Az általa kódolt SAT fehérje (small alternatively translated protein) felhalmozódása az endoplazmás retikulum membránjában sejtszintű stresszt indukál, így növelve a sejtlízis mértékét a fertőzés során (Zádori és mtsai, 2005; Mészáros, Tóth, és mtsai, 2017). A fehérje hiányában ún. „lassú terjedésű” fenotípus alakul ki, amelyre jellemző, hogy a fertőzött sejtek integritása tovább megmarad és csökken a sejtlízis mértéke (Mészáros, Tóth, és mtsai, 2017). A többi parvovírusal ellentétben a PPV4 genomjában található *Bocavirus* nemzetség tagjaira jellemző ORF3 szakasz. Az ORF3 a két fő ORF között helyezkedik el és feltehetően a vírusreplikációban játszik szerepet (Cotmore & Tattersall, 2014). A PPV7 esetében is leírtak egy harmadik, ún. NP (nukleoprotein) ORF jelenlétét a vírusgenom közepén, az NS génnel átfedésben, amely által kódolt fehérjének valamilyen szabályozó szerepet tulajdonítanak (Pénzes és mtsai, 2019).

5.2 Eredet és evolúció, genotípusok

5.2.1 Sertéscircovírusok

A kétezres évek elején az első igazoltan PCV2-höz köthető jelentősebb gazdasági károkat okozó járványkitörések után, az elérhető PCV1 és PCV2 szekvenciák elemzése azt mutatta, hogy a sertéscircovírusok a madárcircovírusokból fejlődtek ki, először vaddisznókat, majd házisertéseket megfertőzve (Firth és mtsai, 2009). Az elmúlt években a PCV-ket érintő széleskörű kutatások nyomán az egyre több, különböző eredetű szekvencia meghatározása pontosabb genetikai elemzéseket tett lehetővé, amelyek alapján a PCV1, a PCV2, és a PCV3 evolúciósan a denevérekben leírt circovírusokkal állnak kapcsolatban és feltehetőleg belőlük fejlődtek ki (G. Li és mtsai, 2018). A PCV4 pedig filogenetikai elemzések alapján a nyérccircovírusal van közeli genetikai rokonságban. A közös eredetet az is alátámaszthatja,

hogy a sertések mellett a vírus képes megfertőzni nyérceket, rókákat, kutyákat és mosómedvéket is (Yang és mtsai, 2018; D. Wang és mtsai, 2022; X.-M. Chen és mtsai, 2023). A PCV-k között a teljes genomszekvencia alapján a PCV4 66,9%-ban azonos a nyérccircovírussal, de csak 50,3%-ban a PCV1-gyel, 51,5%-ban a PCV2-vel és 43,2%-ban a PCV3-mal (H. Zhang és mtsai., 2020). A PCV1 viszont közel 80%-ban azonos a PCV2-vel (Allan és Ellis, 2000), ezzel szemben a PCV3-mal mindkét vírus kevesebb mint 50%-ban (PCV1: 45,5%, PCV2: 46,8%) (Z. Guo és mtsai, 2019).

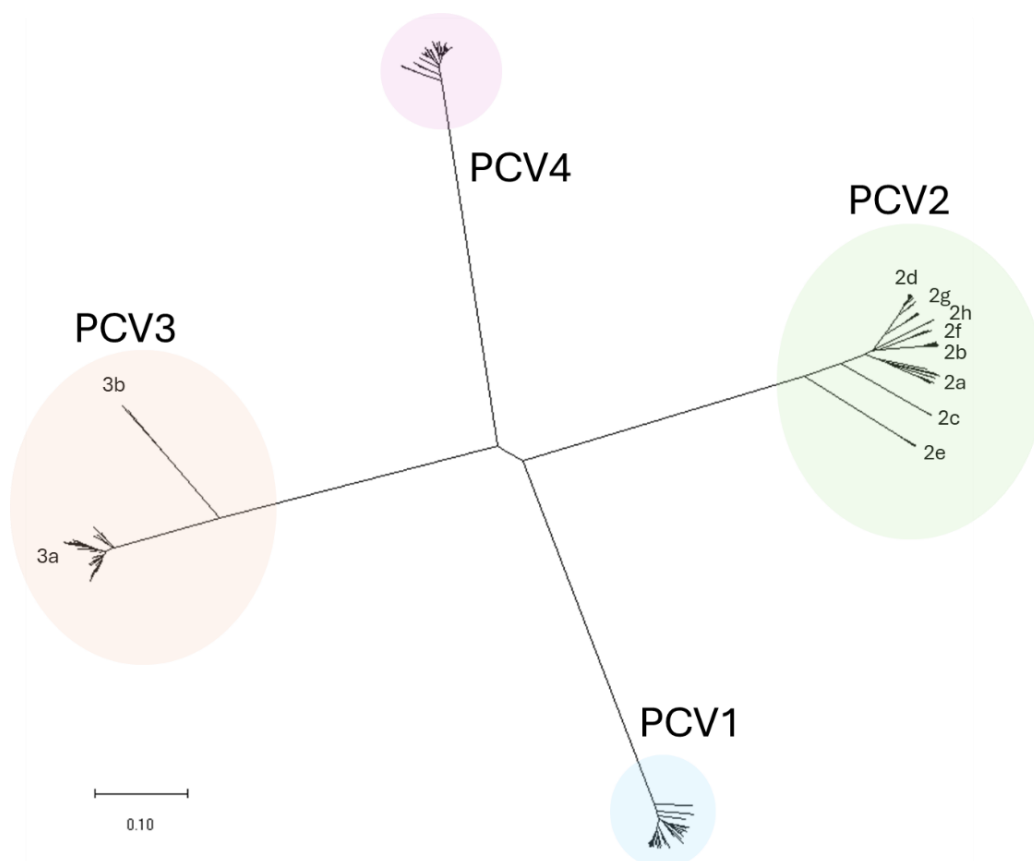
A széles gazdaspektrum természetesen a többi PCV-re is jellemző: a PCV2 DNS-ét a sertéseken kívül kimutatták már többek közt rágcsálókban (Pinheiro és mtsai, 2013), rovarokban (Blunt és mtsai, 2011), kutyákban (Herbst & Willems, 2017), nyestkutyákban (Song és mtsai, 2019), marhákban, bölényekben (Halami és mtsai, 2014; Zhai és mtsai, 2014) és kagylókban (Krog és mtsai, 2014). Kísérleti fertőzés során egerekben, illetve borjakban is mikroszkópikus elváltozásokat és szerokonverziót észleltek (Halami és mtsai, 2014; X. Wang és mtsai, 2017). Hasonlóképpen, a PCV3-at is kimutatták már más állatokban, például marhákban (W. Wang és mtsai, 2019), kutyákban (J. Zhang és mtsai, 2018), laboratóriumi egerekben (Jiang és mtsai, 2019), zergékben, őzekben, továbbá kullancsokban (Franzo, Grassi, és mtsai, 2019) és sertésfarmokon begyűjtött szúnyogokban (Ha, Li, Xie, Li, és mtsai, 2020). Egy német tanulmányban xenotranszplantáció céljából tenyésztett, transzgenikus sertésektől származó szívátültetést kapott páviánokban megfigyelhető volt a PCV3 hosszantartó replikációja (Krüger és mtsai, 2019). Az a tény, hogy ezek a vírusok képesek lehetnek különféle állatfajokat megfertőzni és bennük szaporodni, potenciálisan új zoonotikus betegségek kialakulásához vezethet, de jelen tudomásunk szerint a PCV-k nem tekinthetők közvetlen zoonotikus kockázatnak az emberre nézve. Fontos megjegyezni viszont, hogy egy vírus, amely többféle állatfajban perzisztál, nagyobb genetikai variabilitásra tehet szert, ami növelheti annak esélyét, hogy alkalmazkodjon akár az emberi gazdákhoz is.

A PCV2 és a PCV3 igen nagyfokú szubsztitúciós rátával rendelkeznek (10^{-3} – 10^{-4} nukleotidcsere/hely/év), amely nagyságrendileg az RNS-vírusokhoz hasonlítható (Duffy és mtsai, 2008; G. Li és mtsai, 2018). Ez a gyors molekuláris evolúciós ráta számos új, különböző biológiai és epidemiológiai tulajdonsággal rendelkező variáns megjelenéséhez vezetett. A PCV2 klasszifikációt 2018-ban egységesítették, amely alapján a nyolc különböző genotípus (PCV2a–2h) különíthető el (Franzo & Segalés, 2018). Azóta már leírtak egy feltételezett kilencedik, Amerikában kimutatott PCV2i genotípust is (Y. Wang és mtsai, 2020). Az összes elérhető teljes PCV2 ORF2 szekvencia elemzésével három kritériumot állapítottak meg amelyek a klasszifikáció alapját képezik: genotípusonként legalább 15 elérhető szekvencia, maximális genotípuson belüli p-távolság 13%, és több mint 70%-os bootstrap-érték az adott elágazásnál a filogenetikai fán (Franzo & Segalés, 2018). A 2000-es évek elején, körülbelül 5–

10 évvel a PCV2 felfedezése után inaktivált (PCV2a genotípuson alapuló) PCV2-vakcinákat vezettek be Európában és Észak-Amerikában. A széles körű vakcinázás bevezetése előtti és utáni PCV2-törzsek részletes összehasonlító genetikai elemzése jelentős eltérésekre világított rá leginkább a kapszid régiót kódoló génszakasz esetében. Ezen változások nagy valószínűséggel a megváltozott „immunológiai környezet” hatására következtek be. Az egyes PCV2-genotípusok prevalenciája azóta folyamatosan változik: eleinte a PCV2a volt a meghatározó, majd 2003 és 2006 között egy genotípusváltás (genotype shift) következtében Észak Amerikában és Európában megjelent a PCV2b-genotípus (Patterson & Opriessnig, 2010). Ezzel egy időben kezdett el növekedni a súlyosabb klinikai tüneteket mutató járványkitörések száma (Cortey és mtsai 2011; Segalés és mtsai 2013). Hasonló jelenség volt megfigyelhető a 2010 és 2015 közötti időszakban: feltehetőleg egy második genotípusváltás nyomán a PCVb-t világszerte elkezdte felváltani a PCV2d (Franzo, Tucciarone, és mtsai, 2016). Érdekes módon a genotípusváltás a vaddisznóknál és pekariknál is megfigyelhető, amelyeket a házisertésektől való fertőződés eseményeinek tekintenek (Franzo és mtsai, 2015; Dei Giudici és mtsai, 2019).

A PCV3 és a PCV4 genetikai diverzitása eddig igen kicsinek mutatkozik, különösen a PCV2-vel összehasonlítva. A filogenetikai vizsgálatok kimutatták, hogy a PCV3-törzsek két kládba tömörülnek (PCV3a és feltételezett PCV3b genotípus) a következő kritériumok alapján: bootstrap-támogatottság magasabb mint 90%, valamint maximális genetikai távolság 3% a teljes genom és 6% az ORF2 szintjén (Franzo, Delwart, és mtsai, 2020).

A PCV4 esetében jelenleg nincs egységes besorolási rendszer, az eddig leírt 64 teljes genomszekvencia vizsgálata során egy friss közleményben a szerzők 3 genotípust különítettek el (PCV4a, PCV4b, PCV4c) (X.-M. Chen és mtsai, 2023). Az egyes PCV-k genetikai kapcsolata és a különböző genotípusokat szemléltető filogenetikai fa a 3. ábrán látható.



3. ábra. A sertéscircovírusok genetikai kapcsolatát szemléltető filogenetikai fa.

A törzsfá a GenBank-ban található 350 válogatott PCV1, PCV2, PCV3 és PCV4 ORF2 génszekvenciák analízisével, Neighbor-joining módszerrel a p-távolság modell használatával, 1000 bootstrap-ismétléssel készült a MEGAX programmal.

5.2.2 Sertésparvovírusok

A PPV1 közeli rokonságban áll a CPV-vel, az FPV-vel, illetve az egerek minute vírusával (mouse minute virus, MVM). Az említett vírusok antigén-tulajdonságú VP2 kapszidfehérjei röntgenkristallográfiás vizsgálata során egymással nagyfokú hasonlóságot mutatott (Simpson és mtsai, 2002). Habár általánosságban a VP1/VP2 gének evolúciósan nagymértékben konzerváltak (Shangjin és mtsai, 2009), egyes misszensz mutációk megváltoztathatják a kapszidfehérje felületének szerkezetét, amelyek összefüggésben állhatnak a különböző patogenitású törzsek kialakulásával (Simpson és mtsai, 2002). A PPV1 esetében a VP2 génszekvencia egyes aminosavcseréi az apatogén vakcinavírus NADL-2 és a virulens Kresse törzsek között (D528G, H533Q és S586P) alapvető szerepet játszanak a VP2 funkciójában és tulajdonságaiban (Bergeron és mtsai, 1996).

A PCV-khez hasonlóan a PPV-k is igen jelentős, az RNS-vírusokhoz hasonló szubsztitúciós/mutációs rátával rendelkeznek (1. táblázat) (Shackelton & Holmes, 2006; Norja és mtsai, 2008). A legfrissebb adatok alapján ez az evolúciós ráta a PPV1 esetében jellemzően 10^{-5} / nukleotidcsere/hely/év nagyságrendű, amely gyorsnak számít a DNS-vírusok körében,

ugyanakkor mérsékeltebbnek tekinthető az RNS-vírusok általános dinamikájához viszonyítva (Vereecke és mtsai, 2022). Emellett az 1980-as évek óta széleskörűen használt PPV-vakcinák valószínűleg csökkentették a vírus genetikai diverzitását és túlsúlyba kerültek olyan törzsek, amelyek kapszidjának felépítése eltér azoktól a törzsekétől, amelyek ellen a vakcinákat eredetileg kifejlesztették. Ebből kifolyólag az ún. klasszikus Kresse és NADL-2 törzsek mellett széleskörűen elterjedt a PPV1-27a elnevezésű, igen virulens genotípus (Streck és mtsai 2013; Streck és mtsai, 2015). Németországi mintákból izolált PPV1-27a, PPV1-143a virulens törzsek, illetve két vakcinavírus (PPV1-NADL-2 és PPV1-IDT) vizsgálata során a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a PPV1-27a genotípusú törzsek befolyásolhatják a PPV1 elleni hatásos vakcinációt (Zeeuw és mtsai, 2007). Azonban előzetes szerológiai vizsgálatok eredményei azt mutatták, hogy az ún. Kresse-szerű K22 törzs alapú vakcinával oltott sertések savói hasonló mértékben neutraizálták a 27a törzset, mint a többi ismert PPV1-et (K22, Kresse, NADL-2), ami megkérdőjelezi a vírustörzs egyedi szerológiai tulajdonságait (Mészáros és mtsai, 2022).

Az elmúlt években több kísérletet tettek a PPV1 klasszifikáció egységesítésére, amelyek a részleges VP1/VP2 vagy az NS1 szekvenciák alapján 2–7 genetikailag elkülönülő kládot állapítottak meg (Zimmermann és mtsai, 2006; Cadar és mtsai, 2012; Ren és mtsai, 2013; Streck és mtsai, 2015; Oh és mtsai, 2017). Egy 2022-ben megjelent közleményben a szerzők egy új, egységes klasszifikációt javasoltak, amely a teljes VP1 szekvencia alapján PPV1a-tól PPV1d-ig négy genotípusba sorolja a PPV1 szekvenciákat (Vereecke és mtsai, 2022).

Az újonnan leírt PPV2–PPV7 is hasonlóan magas, 10^{-5} és 10^{-4} /nukleotidcsere/hely/év közötti szubsztitúciós rátával rendelkeznek (Cadar, Lőrincz, és mtsai, 2013; H.-C. Chung és mtsai, 2020), amelyek közül kiemelkedően magas a PPV7 evolúciós rátája: $2,19 \times 10^{-3}$ /nukleotidcsere/hely/év a VP és $8,01 \times 10^{-4}$ /nukleotidcsere/hely/év az NS génen (H.-C. Chung és mtsai, 2020; D. Wang és mtsai, 2020) (1. táblázat). Ezeknek az új vírusoknak a filogenetikai elemzéseit illetően fontos megjegyezni, hogy az elérhető szekvenciák számától és eredetétől függően különböző klasszifikációkat javasoltak a kutatók. Mindegyik PPV esetében a különböző földrajzi eredetű szekvenciák növekvő száma elengedhetetlen egy egységes besorolási rendszer kidolgozásához. Az eddig megjelent tanulmányok a VP és/vagy NS1 szekvenciák alapján 2–4 genetikailag elkülönülő kládot írtak le, amelyek többé-kevésbé tükrözték az egyes vírusok földrajzi eloszlását (Cadar, Cságola, és mtsai, 2013; J. Sun és mtsai, 2015; Cui, Fan, és mtsai, 2017; Vargas-Bermudez és mtsai, 2021; Lagan Tregaskis és mtsai, 2021; S.-C. Kim és mtsai, 2022; Komina és mtsai, 2024). Kivételt képeznek a PPV5 és PPV8 vírusok, mivel az előbbi esetén még nem tudtak filogenetikai csoportokat elkülöníteni az

elérhető szekvenciák vizsgálata során (S.-C. Kim és mtsai, 2022), a legújabban leírt PPV-ből pedig egyelőre igen kevés szekvencia elérhető a GenBank-ban.

5.3 Epidemiológia és terjedés

5.3.1 A sertéscircovírusok elterjedtsége

A sertéscircovírusok világszerte elterjedtek a sertéspopulációkban és legtöbbjük feltehetőleg hosszú ideje kering házi sertésekben. Retrospektív tanulmányok számos vírust már az első leírásukat megelőzően kimutattak. Archivált, formalin-fixált paraffinba ágyazott (FFPE) szövetminták vizsgálata során bizonyítékot találtak PCV2-fertőzésekre már 1962-ből, míg PCV2-vel összefüggő elváltozásokat 1985-ből származó szövetekben is megfigyeltek (Jacobsen és mtsai, 2009). Egy brazíliai kutatócsoport egészen 1967-ig visszamenőleg sikeresen kimutatta archivált szövetmintákban a PCV3 DNS-t (Rodrigues és mtsai, 2020), Európában belül pedig Svédországban 1993-ból származó, illetve Spanyolországban 1996-ból származó sertésszövetmintákban azonosították a vírust (Klaumann és mtsai, 2018; Ye és mtsai, 2018).

Apatogén vírus lévén igen kevés kutatást folytattak a PCV1 globális elterjedtségének a félmérése érdekében, de szerológiai vizsgálatok azt mutatják, hogy a PCV1 elleni antitestek nagy arányban fordulnak elő a sertésállományokban (Cao és mtsai, 2018; J. A. Ellis és mtsai, 2000; Puvanendiran és mtsai, 2011). Hazánkban a PCV1 jelenlétét Cságola és mtsai írták le vaddisznóminták vizsgálata során (Cságola és mtsai, 2008).

A PCV2 és PCV3 igen elterjedt vírusok, előfordulásukat az összes fő sertéstermelő területen leírták már, beleértve Amerikát (Phan és mtsai, 2016; R. Palinski és mtsai, 2017; Tochetto és mtsai, 2018; Serena és mtsai, 2021), Európát (Allan és mtsai, 1998; Faccini és mtsai, 2017; Franzo, Legnardi, Hjulsager, és mtsai, 2018; Stadejek és mtsai, 2017; Woźniak és mtsai, 2020) és Ázsiát (S.-C. Kim és mtsai, 2018; Visuthsak és mtsai, 2021; Wen és mtsai, 2018; Xu és mtsai, 2021). A PCV2 és a PCV3 jelenlétét megerősítették Afrikában (Chang'a és mtsai, 2023; Luka és mtsai, 2022; Tegegne és mtsai, 2022), továbbá a PCV2-t Ausztráliában (Muhling és mtsai, 2006) és Új-Zélandon (Garkavenko és mtsai, 2005) is leírták. A PCV4 jelenlétét pedig eleinte csak Ázsián belül Kínában (H. Zhang és mtsai, 2020), Dél-Koreában (Nguyen és mtsai, 2021), Thaiföldön (Sirisereewan és mtsai, 2023) és Malajziában (Tan és mtsai, 2023) azonosították. Európában először egy Spanyolországban végzett retrospektív vizsgálat során detektáltak 2023-ban (Holgado-Martín és mtsai, 2023), majd nemrégiben az USA-ban klinikai minták vizsgálata során *in situ* hibridizációs módszerekkel is sikeresen kimutatták a vírusgenomot, kimagasló gyakorisággal a lymphoid szövetekben (Kroeger és mtsai, 2024).

A PCV2-t Magyarországon először a Debreceni Állategészségügyi Intézet munkatársai írták le 2000-ben egy PCV2-SD (akkori nevén választás utáni sorvadás, postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) tüneteit mutató sertésállományban (Kiss és mtsai, 2000). Eleinte néhány hónapig csak Hajdú-Bihar vármegyéből jelentettek PCV2-SD-eseteket Magyarországon, de a vakcinázás előtti időszakban a vírus gyorsan szétterjedt az egész országban és a 2001-es év végére már nem találtak olyan sertéstelepet, ahol a vizsgálatok negatív eredményt adtak volna (Dán és mtsai, 2003). A PCV3-at pedig Deim és munkatársai azonosították hazánkban egy reprodukciós rendellenességekkel küzdő sertéstelep vizsgálata során (Deim és mtsai, 2019).

5.3.2 A sertésparvovírusok elterjedtsége

Az első ismert sertésparvovírust, a PPV1-et először 1964-ben Németországban írták le, ahol a klasszikus sertéspestis izolálásához használt sertés eredetű primer sejtenyészeten olyan 22–23 nm átmérőjű kontamináns részecskéket találtak, amelyek nagymértékben hasonlítottak a patkányparvovírushoz (Mayr & Mahnel, 1964). Néhány évvel később leírták a vírus előfordulását sertésekben és az általa okozott fertőzést vetéléses esetekhez társították (Cartwright és mtsai, 1969). A sertéscircovírusokhoz hasonlóan világszerte mindenütt előfordul és igen elterjedt a sertésállományokban. A vírusfertőzéshez köthető szaporodásbiológiai problémák megelőzése érdekében a PPV1 okozta kórképet széleskörű vakcinázással kontrollálják.

A PPV2-t 2001-ben Mianmarban azonosították, Hepatitis E vírus kutatásához használt vérsavóminták vizsgálata során (Hijikata és mtsai, 2001). A PPV3 első leírása 2008-ban, Hong-Kongban történt, ahol a vírust egyes marhaparvovírusokkal együtt azonosították és ekkor még sertés hokovirus-ként hivatkoztak rá (Lau és mtsai, 2008). A PPV4-et két év elteltével, 2010-ben az USA-ban, PCV2-fertőzött állatok tüdőmintáiban azonosították (Cheung és mtsai, 2010). A kétezres évek eleje óta már minden kontinensen leírták ezeknek a vírusoknak a jelenlétét, ami globális elterjedtségre enged következtetni: több ázsiai országban, mint például Dél-Koreában (S.-C. Kim és mtsai, 2022), Kínában (J. Li és mtsai, 2021; J. Sun és mtsai, 2015), Vietnámban (Thuy és mtsai, 2021), és Thaiföldön (Saekhow & Ikeda, 2015), továbbá Amerikán belül az USA-ban és Mexikóban (Garcia-Camacho és mtsai, 2020), illetve Dél-Afrikában (Afolabi és mtsai, 2019) is detektálták már a PPV2-t, PPV3-at és PPV4-et. Európában eddig lengyelországi (Milek és mtsai, 2019), németországi (Streck, Homeier, Foerster, Fischer, és mtsai, 2013), olaszországi (Faustini és mtsai, 2024), romániai, szerbiai (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012) és nagy-britanniai (Lagan Tregaskis és mtsai, 2021) minták vizsgálata során azonosították ezeket a vírusokat. Ennek a három vírusnak a jelenlétét

hazánkban először Cságola és munkatársai írták le 2012-ben (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012).

A PPV5 első leírása Amerikában történt 2013-ban. A vírusgenomot különböző korosztályú, klinikai tüneteket mutató sertések tüdő- és bélsármintáiban detektálták egy PPV4-prevalenciavizsgálat során (Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013). A PPV6-ot 2014-ben, Kínában olyan vetélt magzatok és malacok mintáiból mutatták ki, amelyekben más reprodukciós zavarokat okozó kórokozót nem találtak (Kang és mtsai, 2014). A PPV7-et először 2016-ban Amerikában azonosították, egészséges felnőtt állatok végbéltampon mintáinak metagenom-szekvenálásával (R. M. Palinski és mtsai, 2016). Mind a PPV5-öt, a PPV6-ot és a PPV7-et is kimutatták már olyan ázsiai országokban mint Kína (Qin és mtsai, 2018; Xing és mtsai, 2018; J. Li és mtsai, 2021) vagy Dél-Korea (H.-C. Chung és mtsai, 2020; S.-C. Kim és mtsai, 2022), emellett az USA-ban (Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013; Opriessnig, Xiao, Gerber, & Halbur, 2014; Schirtzinger és mtsai, 2015; R. M. Palinski és mtsai, 2016), Kolumbiában (Vargas-Bermudez és mtsai, 2024) és az európai országok közül Lengyelországban (Milek és mtsai, 2019, 2020) és Olaszországban (Faustini és mtsai, 2024) is azonosították már a vírusok jelenlétét. A PPV5-öt és PPV6-ot Mexikóban is leírták (Garcia-Camacho és mtsai, 2020), a PPV6-ot továbbá spanyolországi (Franzo, Kekarainen, és mtsai, 2019) és oroszországi (Komina és mtsai, 2024) minták vizsgálata során is sikeresen kimutatták. A legújabb PPV-t, a PPV8-at 2022-ben azonosították kínai kutatók, nagy áteresztőképességű szekvenálási módszerrel PRRSV-pozitív (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, sertések reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómájának vírusa) minták vizsgálata során (Y. Guo és mtsai, 2022). Egy frissen megjelent közleményben pedig Kolumbiában is leírták a vírus jelenlétét légzőszervi megbetegedésben szenvedő állatok tüdőmintáiban (Vargas-Bermudez & Jaime, 2024).

Retrospektív vizsgálatok, illetve vírusevolúciós elemzések azt mutatják, hogy a PPV-k már jóval az első detektálásuk előtt jelen voltak a sertésállományokban. A PPV1 megjelenése több mint 150 évvel ezelőttre, 1855-re tehető (Vereecke és mtsai, 2022), míg a többi PPV megjelenési időpontjai a következők: a PPV2 az 1920-as években, a PPV3 az 1930-as években, a PPV4 az 1980-as években (Cadar, Lőrincz, és mtsai, 2013) és a PPV7 2004 körül (D. Wang és mtsai, 2020). A PPV5 és PPV8 esetében még nem végeztek ehhez hasonló vírusevolúciós elemzéseket, így ezekről a vírusokról nincsenek hasonló információink.

5.4 A PCV-k és PPV-k kórokozó képessége

5.4.1 Sertéscircovírusokhoz köthető kórképek

A sertéscircovírusokról általánosságban elmondható, hogy viszonylag könnyen izolálhatóak fertőzött szövetekből, és általában sikeresen szaporíthatóak hámeredetű

sejtvonalakon, beleértve a PK-15 és SK sertésvese és az ST sertéshere sejtvonalakat (Tischer és mtsai, 1982, 1986). A PCV-k szaporodása sejtenyészeten a sejtciklustól függ, aktívan osztódó sejtekre van szükségük (Tischer és mtsai, 1986). A sejt kultúrában szaporított vírust használták PCV1-inokulum előállítására és sertések kísérleti fertőzésére (Tischer és mtsai, 1986; Allan és mtsai, 1995). Általánosságban elmondható, hogy a PCV1-fertőzés nem okoz klinikai tüneteket, illetve makroszkopikus és mikroszkopikus elváltozásokat sertésekben. A vírust apatogénnek tartják, (Tischer és mtsai, 1986) bár egy mesterséges fertőzéses kísérlet során azt találták, hogy szerepe lehet magzatkárosító hatások kialakításában (Saha és mtsai, 2011). Továbbá, a kilencvenes években indirekt immunfluoreszcens vizsgálattal igazolták a PCV1 antigénjének jelenlétét PCV1-gyel kísérletileg fertőzött, újszülött malacok lép-, csecsemőmirigy- és tüdőmintáiban (Allan és mtsai, 1995).

A PCV2-nek számottevő gazdasági kártétele van, és ennek következtében jelentősége kimagasló a sertés vírusok közül. A PCV2-fertőzéssel összefüggésbe hozható kórképeket összefoglaló néven PCVD-nek nevezzük. Ezek közül az egyik legjelentősebb a PCV2 okozta szisztémás megbetegedés (PCV2-SD), amelyet korábban választott malacok választás utáni sorvadásának (PMWS) neveztek és először a 90-es évek elején, Kanadában azonosították. Elsősorban 2–4 hónapos állatokban jelentkezik, az állomány szétnövését, megnövekedett elhullási arányt, légzőszervi tüneteket, kóros lesoványodást, legyengülést, sárgaságot, hasmenést okozhat (Ellis 2014). Az első PMWS esetek leírása után, a vírusfertőzött lymphoid szövetekben jelentős mennyiségű circovírus-antigént sikerült azonosítani PCV1 (akkoriban PCV) elleni poliklonális antitestek segítségével. Nemsokkal ezután a vírus izolálására is sor került, amelynek szekvenciameghatározása során jelentős eltérést figyeltek meg az eddig ismert PCV1-hez képest (Allan, Mc Neilly, és mtsai, 1999). A PCV2 kórokozóképességét ezután hagyományos vírusizolációs módszerekkel, továbbá PCV2-SD-ben szenvedő sertések fertőzött szöveteiből származó inokulummal végzett fertőzéses kísérletekkel, kórszövettani vizsgálatokkal, valamint immunhisztokémiai és *in situ* hibridizációs módszerek alkalmazásával igazolták (Allan és mtsai, 1998; J. Ellis és mtsai, 1998; Kiupel és mtsai, 1998; Morozov és mtsai, 1998). A PCV2-vel fertőzött és megbetegedett állatok lymphoid szöveteiben lymphocita deplációval, ill. a macrophagok proliferációjával kísért, ún. granulomatosus gyulladással járó elváltozásokat tapasztaltak, amely súlyos immunszuppresszió mellett végső soron az állatok elhullását is okozhatja (Rodríguez-Arriola és mtsai, 2002; Fehér és mtsai, 2023).

A PCV2-fertőzéshez köthető klinikai tünetek és patológiai elváltozások köre 1991 óta jelentősen kibővült. A PCV2-SD mellett a másik jelentős kórkép a PCV2 okozta reprodukciós megbetegedés (PCV2-RD), amely késői vetéléshez, koraelléshez, magzati mumifikációhoz továbbá visszaivarzáshoz vezethet (West és mtsai, 1999; Madson és mtsai, 2009). A legtöbb tenyészállomány nem szenved a klinikai betegségtől, mivel a felnőtt állatok körében a PCV2

elleni szeroprevalencia általában igen magas. A PCV2-RD főleg az újonnan telepített és szeronegatív sertésállományokban okozhat szaporodásbiológiai problémákat (Pensaert és mtsai, 2004). A koraszülött, illetve vetélt magzatokban gyakorta szívmegegyobbodás és kötőszövetes és/vagy necrotizáló myocarditis figyelhető meg (West és mtsai, 1999).

A sertés dermatitis és nephropathia szindróma (porcine dermatitis and nephropathy syndrome, PDNS) kialakulásában szintén szerepe lehet a PCV2-nek, mivel a fertőzött szervezet által termelt ellenanyagok és a vírusantigén közötti kölcsönhatás immunkomplexek képződéséhez vezethet, amelyek elsősorban a bőrkapillárisok és a veseglomerulusok falában képesek lerakódni (Wellenberg és mtsai, 2004). Ez az ún. III-as típusú túlérzékenységi immunreakció necrotizáló vasculitist és következményes pontszerű vérzések megjelenését okozza, továbbá jellemző lehet a vesék megegyobbodása, fakó megjelenése (Krakowka és mtsai, 2008).

A PCV2 által okozott tüdőbetegség (PCV2-LD) fő klinikai tünetei és elváltozásai a légzési nehézség és a hörgő-, valamint tüdőgyulladás (J. Kim és mtsai, 2003). PCV2 enterális betegség (PCV2-ED) esetében pedig hasmenés és bélgyulladás figyelhető meg (J. Kim és mtsai, 2004). Nemrégiben javasolták, hogy mindkét kórkép képezze a PCV2-SD részét, mivel nem mutattak jelentős eltéréseket a klinikai tünetek, illetve a makroszkópos és mikroszkópos elváltozások terén a PCV2-SD diagnosztikai kritériumaitól (Ticó és mtsai, 2013; Baró és mtsai, 2015).

A PCV2-fertőzés szubklinikai formában is gyakran előfordul (PCV2-SI), ezesetben a jellegzetes klinikai tünetek hiányoznak, de az átlagos napi testtömeg-gyarapodás (average daily gain, ADG) csökkenhet, ami végeredményében a termelési mutatókra lesz negatív hatással (Kurmán és mtsai, 2011). A fertőzés még szubklinikai formában is immunszuppresszív lehet, amelynek hatására a fertőzött állatok fogékonyabbá válhatnak más kórokozókkal szemben. A vakcinázás PCV2-SI esetében is indokolt, mivel bizonyítottan javítja a termelési paramétereket az adott állományokban (Horlen és mtsai, 2008).

A PCV2 sejtropizmusát vizsgálva megállapították, hogy a vírusnak korfüggő tropizmusa van a célsejtekre (Nauwynck és mtsai, 2012). Magzatokban a PCV2 a szívizomsejteket, a májsejteket és a monocyta-eredetű sejteket célozza meg (Sanchez és mtsai, 2003). A szívizomsejtek tömeges fertőzése általában a magzatok halálához vezet a vemhesség különböző szakaszaiban, és attól függően, hogy a fertőzés mikor történik, mumifikálódott magzatok vagy életképtelen malacok jönnek világra (Pensaert és mtsai, 2004). Az ellés után a PCV2 tropizmusa átvált a lymphoblastokra és a macrophagokra, a vírusantigént pedig gyakran a nyirokszövetekben vagy egyéb, a gyulladásos sejtek által beszűrt területeken lehet kimutatni (Sanchez és mtsai, 2003). *In vitro* tanulmányok, amelyek a

perifériás vér mononuclearis sejtjeit és a különböző időpontokban PCV2-vel fertőzött sertések szöveteit használták, tovább erősítették azt a feltevést, hogy a B-lymphocyták fontos célpopulációt jelentenek a PCV2 replikációjában (Yu és mtsai, 2007).

A PCV3-at 2016-ban az Egyesült Államokban, újgenerációs szekvenciameghatározásos módszerek segítségével azonosították PDNS-ben elhullott állatokban, továbbá vetélt malacok gyulladásos elváltozásokkal terhelt szívizom- és egyéb szervmintáiban (Phan és mtsai, 2016). A vírus felfedezését követően világszerte számos országban megállapították a jelenlétét (Stadejek és mtsai, 2017; Wen és mtsai, 2018; Franzo, Legnardi, Hjulsager, és mtsai, 2018; Yuzhakov és mtsai, 2018), ám kórtani jelentősége még nem teljesen tisztázott. A PCV3-fertőzésnek szerepe lehet légző- és emésztőszervi betegségek (Qi és mtsai, 2019; Zhai és mtsai, 2017), reszketőkór (congenital tremors, CT) (G. H. Chen és mtsai, 2017) továbbá a fül deformációjával járó és sorvadásos megbetegedések kialakulásában (Alomar és mtsai, 2021; Molossi és mtsai, 2022). A leggyakrabban leírt kórképek a szaporodásbiológiai zavarok (Faccini és mtsai, 2017; Arruda és mtsai, 2019; Deim és mtsai, 2019; Molossi és mtsai, 2022) és a sokszervi gyulladás (Phan és mtsai, 2016; Arruda és mtsai, 2019; Alomar és mtsai, 2021; Molossi és mtsai, 2022), de szubklinikai formában is gyakorta előfordul (Zhai és mtsai, 2017; S. Chen és mtsai, 2021). Az első leírás után néhány évvel a PCV3-at sikeresen izolálták sejt kultúrában és szaporították PK-15 sejtvonalon. Egy 2020-ban megjelent közleményében a szerzők PCV3-izolátummal mesterségesen megfertőztek és immunstimulánssal kezeltek nyolc 6 hetes CD/CD (cesarean-derived, colostrum-deprived, császármetszéssel született, kolosztrumot nem kapott) állatot, amelynek eredményeképp négyben sikerült kimutatni a myocarditisszel és perivasculitisszel jellemezhető sokszervi gyulladást (Mora-Díaz és mtsai, 2020). Egy másik PCV3 kísérleti fertőzés során 4 és 8 hetes malacokat fertőztek PCV3-izolátummal. A fertőzés utáni 8. napon egyes malacokban étvágytalanságot, lázat, hasmenést és légzési nehézséget tapasztaltak, de néhány állat esetében PDNS-szerű elváltozásokat figyeltek meg, amit hirtelen elhullás követett (Jiang és mtsai, 2019). A PCV3-antigént minden szervben kimutatták immunhisztokémiai módszerrel és a tüdőben, szívben, nyirokcsomókban, májban, vesékben és a vékonybélben makroszkopikus és mikroszkopikus elváltozásokat észleltek (Jiang és mtsai, 2019). További tanulmányok *in situ* hibridizációs módszerekkel igen magas PCV3-szintet tapasztaltak vetélt magzatok mintáiban, valamint PDNS, tüdőgyulladás, periarteritis, myocarditis vagy encephalitis eseteiben (Phan és mtsai, 2016; Arruda és mtsai, 2019; Saporiti, Valls, és mtsai, 2021; Vargas-Bermúdez és mtsai, 2021; Alomar és mtsai, 2021; Molossi és mtsai, 2022). A PCV3-fertőzéshez köthető viszonylag szerteágazó kórképek okán a közelmúltban a PCV3-mal összefüggő betegségek diagnózisának egységesítésére tettek kísérletet, amely során az anyaállatokra és magzatokra jellemző szaporodásbiológiai

zavarokat (PCV3-RD), és a választáskorú malacokra jellemző szisztémás megbetegedést (PCV3-SD) különítették el (Saporiti, Franzo, és mtsai, 2021). Fontos megemlíteni, hogy a PCV2-höz hasonlóan a sertésállományokban a PCV3 is igen gyakran szubklinikai fertőzés formájában van jelen (Kroeger és mtsai, 2022).

A PCV4-fertőzés kórtani jelentősége még nem ismert, de különböző klinikai tüneteket mutató állatok mintáiban azonosították már a vírus örökítőanyagát. Ilyenek például a PCV2-SD, a PDNS, továbbá légzőszervi, emésztőrendszeri és idegrendszertünetek, de egészséges malacokban is gyakorta kimutatták (H. Zhang és mtsai, 2020; Tian és mtsai, 2021; Hou és mtsai, 2022; Holgado-Martín és mtsai, 2023; Kroeger és mtsai, 2024).

5.4.2 Sertésparvovírusokhoz köthető kórképek

A PPV1 a fertőző eredetű szaporodásbiológiai zavarok egyik leggyakoribb okozója világszerte. A PPV1-fertőzés vemhes állatok esetében korai ellést, halvaszületést, mumifikációt, magzati elhalálozást és meddőséget okozhat (stillbirth, mummification, embryonic death, infertility, SMEDI-tünetegyüttes). A vírusreplikáció elsődleges helyszínei a lymphoid szövetek, ahonnan viraemia útján szisztémásan terjed szét a szervezetben. A magzatok vertikális úton fertőződhetnek meg a vírussal, amely feltehetőleg anyai macrophagok közvetítésével képes átjutni a méhlepényen (Mészáros, Olasz, és mtsai, 2017). A fejlődő magzati szövetekre jellemző nagy mitotikus aktivitás elősegíti a vírus gyors replikációját. A vírust számos szövetben és szervben ki lehet mutatni, ami arra utal, hogy nincs specifikus szövettropizmusa (Wilhelm és mtsai, 2005).

A fertőzés kimenetelében meghatározó, hogy a vemhesség során pontosan mikor történik a fertőződés. Amennyiben a vemhesség 35. napja előtt történik a kocák, kocasüldők fertőzése az a magzatok felszívódását okozhatja, mivel ekkor még nem indult meg a magzati csontosodás. A vemhesség 35. és 70. napja közötti időszakban a magzatok elhalála mumifikációt és a PPV1-fertőzésre igen jellemző, ún. magzatsorok (különböző fejlődési állapotú és elhalt magzatok sorozata, amelyet a magzatok fertőződésének ideje és az embriók méhen belüli pozíciója is befolyásolhat) kialakulását okozhatja (Johnson és mtsai, 1976). A vemhesség 70. napja utáni fertőzést a magzatok már többnyire átvészelik, mivel immunrendszerük már kellően fejlett ahhoz, hogy képesek legyenek megfelelően védekezni és ellenanyagot termelni a PPV1-gyel szemben (Joo & Johnson, 1977).

Az újonnan leírt PPV-k közül eddig egyedül a PPV2-t tartják potenciálisan kórokozó vírusnak. A PPV2 gyakori előfordulása légzőszervi betegségekben szenvedő sertések körében arra enged következtetni, hogy a fertőzött állatok esetében szerepet játszhat a sertések légzőszervi betegség komplexének (porcine respiratory disease complex, PRDC) kialakulásában (Nelsen és mtsai, 2021). Mind a vírus DNS-t (Xiao, Gerber, és mtsai, 2013),

mind az anti-PPV2 ellenanyag magas szintjét (Cságola és mtsai, 2016) sikeresen kimutatták légzőszervi megbetegedéssel küzdő állatok mintáiban. Tüdőminták vizsgálata során a vírus genomját elsődlegesen alveolaris macrophagokban és lymphocytákban mutatták ki (Novosel és mtsai, 2018; Nelsen és mtsai, 2021). A PPV2-pozitív tüdők esetében interstitialis tüdőgyulladást és tüdőödémát is azonosítottak (Lagan Tregaskis és mtsai, 2021).

A PPV3–PPV8 esetén még nem jelentek meg olyan bizonyító erejű adatok, amelyek konkrét összefüggéseket mutatnak az egyes vírusok jelenléte és a különböző klinikai tünetek, vagy elváltozások kialakulása között. A legtöbb esetben a tüneteket mutató állatok mintáiból a vírusgenom kimutatása alapján következtetnek a vírusok patogenitására, kórokozó képességére. A PPV2-höz hasonlóan a PPV3 (Xiao és mtsai, 2012) és PPV6 (Qin és mtsai, 2018) genomját is nagy mennyiségben kimutatták már légzőszervi megbetegedésekkel küzdő sertések tüdőmintáiból. Az egészséges állatok szérummintáival összehasonlítva, a PPV2, PPV3 és PPV6 gyakori előfordulását írták le a PRDC-s esetekben (Qin és mtsai, 2018). A PPV3 jelentőségét tovább növeli, hogy genetikailag közel áll a humán parvovírus 4-hez is, emiatt pedig felmerülhet a zoonózis lehetősége is (Lau és mtsai, 2008). A PPV3 mellett a PPV4-et is azonosították ödémás tüdőszövetben (Lagan Tregaskis és mtsai, 2021), továbbá a PPV5-öt, a PPV7-et és a PPV8-at is kimutatták már tüdőmintákban (Qin és mtsai, 2018; Ouh és mtsai, 2018; Y. Guo és mtsai, 2022), de ezeket a vírusokat még nem hozták összefüggésbe a PRDC kialakulásával.

Az új PPV-k szerepet játszhatnak még szaporodásbiológiai rendellenességek kialakulásában is. Vetélt magzatok szívizommintáiban kimagasló gyakorisággal mutattak ki PPV4, PPV6 és PPV7 DNS-t (Garcia-Camacho és mtsai, 2020), továbbá a PPV4 genomját reprodukciós megbetegedésben szenvedő kocák ivarszerveiben és kanok ondómintáiban is kimutatták (L. Huang és mtsai, 2010; Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012; Gava és mtsai, 2015). A PPV6-ot első detektálása során igen nagy mennyiségben azonosították vetéléses esetek egyedüli kórokozójaként (Ni és mtsai, 2014) és a PPV7-et is kimutatták már szaporodásbiológiai problémákkal küzdő telepeken (Ouh és mtsai, 2018; Mai és mtsai, 2021). A PPV2–8 szerepe tehát a betegségek kialakulásában még nem teljesen tisztázott, de az valószínűsíthető, hogy immunszuppresszív hatásuk következtében a fertőzött állat jobban ki van téve a többi fertőző ágensnek, ami arra is magyarázatot adhat, miért fordulnak elő gyakran több vírussal együttesen.

5.5 Társfertőzések jelentősége

A sertésállományokban egyre gyakoribbá válik az endémiásan keringő és az újonnan megjelenő vírusok együttes fertőzése (Saade és mtsai, 2020; Lagan Tregaskis és mtsai, 2021; J. Li és mtsai, 2021; Faustini és mtsai, 2024). Ezeknek a társfertőzéseknek az egyes kórképek,

klinikai tünetek kialakulására gyakorolt hatása még mindig tisztázatlan. Két vagy több vírus együttes jelenléte a gazdaszervezetben vírusinterferenciához vezethet az egyik fertőző vírussal szemben, illetve a vírusok replikációjának vagy virulenciájának növekedését okozhatja, így súlyosbítva a klinikai tüneteket (Saade és mtsai, 2020). Amennyiben genetikailag közel álló vírusokról van szó rekombinációs események is bekövetkezhetnek, amelyeket a PPV1 alacsony és magas virulenciájú törzsei (Shackelton és mtsai, 2007), illetve PPV2, PPV3 és PPV7 esetében a házisertéseket és vaddisznókat megfertőző törzsek között is leírtak (Cadar, Cságola, és mtsai, 2013; Cadar, Lőrincz, és mtsai, 2013; J. Li és mtsai, 2021; G.-N. Park és mtsai, 2021).

A különböző PCV2-fertőzéshez köthető kórképek kialakulásában igen nagy szerepe van a PCV2 más patogénekkal való együttes előfordulásának (Opriessnig és mtsai, 2013). Ez azzal magyarázható, hogy a PCV2 közvetlenül az immunrendszer sejtjeit célozza meg, immunszuppresszívnek tekinthető (Darwich és mtsai, 2004; Segalés és mtsai, 2004; Meng, 2013), így az aktív PCV2-fertőzés esetén az állatok fogékonyabbak egyéb kórokozókkal szemben. Többek közt a PPV1-gyel (Allan, Kennedy, és mtsai, 1999; Opriessnig és mtsai, 2004), a PRRSV-vel (Harms és mtsai, 2001) vagy a *Mycoplasma hyopneumoniae*-vel (Opriessnig, Thacker, és mtsai, 2004) történő társfertőzések igazoltan fokozzák a PCV2 replikációját és súlyosbítják a PCV2 által okozott elváltozásokat és klinikai tüneteket. Halva született magzatok szívizommintáinak vizsgálata során PPV1 és PCV2 együttes előfordulása esetén súlyosabb elváltozásokat találtak, mint csak az egyik vírussal történt fertőzés során (Pescador és mtsai, 2007; Sharma & Saikumar, 2010).

A PRDC légzőszervi tünetekkel járó multifaktoriális betegség, amelynek a kialakulásához jellemzően különböző vírusos és bakteriális patogének együttes fertőzése, interakciója szükséges, illetve egyes esetekben paraziták jelenléte, valamint környezeti tényezők, stresszhatások is hozzájárulhatnak (Opriessnig és mtsai, 2011). A PRDC kialakulásához leggyakrabban hozzájáruló, elsődleges patogének közé tartozik a PCV2 mellett a PRRSV, a sertésinfluenza A vírus (swine influenza A vírus, swIAV), a sertéscoronavírus (porcine coronavirus, PRCV) és a *Mycoplasma hyopneumoniae*, illetve az *Actinobacillus pleuropneumoniae* baktérium (Sarli és mtsai, 2021). A sertéscircovírusok közül a PCV3-at (Kedkovid és mtsai, 2018; Savic és mtsai, 2020), illetve mindegyik újonnan leírt PPV-t is sikeresen kimutatták már PRDC-s állatok mintáinak vizsgálata során.

A PCV3-at is viszonylag nagy gyakorisággal detektálják más, gazdaságilag jelentős sertéspatogénekkal együtt, mint például a PCV2 (Woźniak, Milek, Bąska, és mtsai, 2019; Y. Wang és mtsai, 2020), a PRRSV (Arruda és mtsai, 2019; L. Zheng és mtsai, 2020), a PPV1 (Dei Giudici és mtsai, 2020; Luka és mtsai, 2022), a klasszikus sertéspestisvírus (classical

swine fever virus, CSFV) (H.-H. Zheng és mtsai, 2020) vagy a sertés epidémiás hasmenés vírusa (porcine epidemic diarrhea virus, PEDV) (Han és mtsai, 2019). Reprodukciós problémákat okozó patogénekkal társfertőzésben szerepe lehet szaporodásbiológiai kórképek kialakításában, például PRRSV-vel együtt kimutatták koraelléses esetekben, illetve vetélt magzatok mintáiban (Arruda és mtsai, 2019; Saporiti, Valls, és mtsai, 2021). Továbbá reprodukciós rendellenességekkel küzdő állományokból származó mintákból, vetélt és mumifikált magzati szövetekből sikeresen kimutatták a PCV3 vírusgenomot a PPV1-gyel és/vagy a PCV2-vel együtt (Dal Santo és mtsai, 2020; Dei Giudici és mtsai, 2020). A PCV4 esetében a vírus PCV2-vel és/vagy PCV3-mal történő együttes előfordulását írták le eddig PCV2-SD és PDNS esetekben (Tian és mtsai, 2021; W. Sun és mtsai, 2021; Hou és mtsai, 2022), de különböző légzőszervi (PCV2, PRRSV, *Streptococcus suis*, PCV3, swIAV) és enterális megbetegedéseket okozó patogénekkal (*Escherichia coli*, *Salmonella* fajok) is leírták már együttes előfordulását (Kroeger és mtsai, 2024), ami arra enged következtetni, hogy a legújabban leírt PCV is szerepet játszhat különböző komplex, multifaktoriális kórképek kialakulásában.

Az újonnan leírt sertésparvovírusokról általánosságban elmondható, hogy igen gyakran azonosítják őket társfertőzésben különböző kórokozókkal, kimagasló gyakorisággal fordulnak elő a többi PPV-vel, illetve a PCV2-vel és a PRRSV-vel együtt (Opriessnig, Xiao, Gerber, & Halbur, 2014; Qin és mtsai, 2018; Mílek és mtsai, 2019; Lagan Tregaskis és mtsai, 2021; S.-C. Kim és mtsai, 2022; Faustini és mtsai, 2024). Bár feltételezhető, hogy ezek az új vírusok esetleg súlyosbítják az ismert sertéspatogének által okozott kórképeket, egyelőre nincs elegendő bizonyíték arra, hogy valóban befolyásolják a klinikai tünetek súlyosságát vagy más vírusok vírusreplikációját. A PPV2-t és PPV3-at gyakran azonosították swIAV-vel, illetve *Mycoplasma hyopneumoniae*-val együttesen (Nelsen és mtsai, 2021; Xiao és mtsai, 2012), emellett a PPV2, PPV3, PPV5 és PPV6 esetében PRV-vel (pseudorabies vírus, Aujeszky-betegség vírusa) történő társfertőzést is leírtak (Qin és mtsai, 2018). A PPV7-et PCV3-mal együttesen detektálták reprodukciós rendellenességekkel küzdő kocákban (Mai és mtsai, 2021), emellett más tanulmányok is nagyfokú PCV2- és PCV3-vírusterhelést találtak PPV7-pozitív sertésekben (Mílek és mtsai, 2020; X. Zhang és mtsai, 2022). Ezek alapján elképzelhető, hogy az újonnan leírt PPV-k a fertőzött állatokban elősegíthetik a PCV2 replikációját és kofaktorként működhetnek a PCVD megjelenésében és súlyosságában. A PCV3 és a PRRSV replikációját is fokozhatják, és az általuk okozott kórképeket is képesek lehetnek súlyosbítani. Az eddigi irodalmi adatok tehát megerősítik az új PPV-k előfordulását társfertőzésekben más elsődleges kórokozókkal együtt egészséges és különböző, főleg légzőszervi és szaporodásbiológiai megbetegedésekre utaló klinikai tüneteket mutató sertésekben is.

5.6 Diagnosztika, megelőzés és védekezés

Mind a PCV-k, mind a PPV-k nagyon elterjedt vírusok, világszerte mindenütt jelen vannak. Legjelentősebb képviselőik, a PCV2 és PPV1 ellen folyamatosan vakcináznak a legtöbb sertésállományban, de valamennyi PCV és PPV esetében igen gyakoriak a szubklinikai, tünetmentes fertőzések. Felépítésükből kifolyólag nagyon ellenálló vírusok, így gyakran nem csak a fertőzött sertések mintából, hanem a környezetből, használati tárgyakról, továbbá a telepeken jelenlévő rágcsálók (Lőrincz és mtsai, 2010) vagy rovarokból (Blunt és mtsai, 2011) is kimutatható a jelenlétük. Ebből kifolyólag diagnosztikai szempontból nagyon fontos a megfelelő módszerek és mintatípusok kiválasztása. Mivel ellenanyagok nem csak a természetes fertőzés révén lehetnek jelen a szervezetben, hanem például a vakcinázás vagy maternalis immunitás következményeként is, az immunológiai vizsgálatokat körültekintéssel kell alkalmazni. A legtöbb PCV és PPV esetében a vírus DNS-t kimutató PCR-módszerek diagnosztikai szempontból megbízhatóbbnak bizonyulnak.

5.6.1 Sertéscircovírusok

Nem sokkal a PCV2 felfedezése után, már a kilencvenes években kifejlesztettek *in situ* hibridizációs (Rosell és mtsai, 1999) illetve immunhisztokémiai (Sorden és mtsai, 1999) módszereket a vírus azonosítására. A szubklinikai fertőzések nagy aránya miatt a kezdetektől fogva hangsúlyozták, hogy a PCV2 DNS-ének kimutatása önmagában nem elegendő ahhoz, hogy következtetni lehessen a fertőzés és az adott állatban megfigyelt betegség közötti okozati összefüggésre (Sorden, 2000). A sertéscircovírusos betegségek diagnosztizálása tehát hagyományosan a klinikai tünetek, a kórszövettani elváltozások és az elváltozásokból kimutatható vírusDNS, vagy -antigén mennyiségi meghatározásán alapul (Segalés, 2012). Ugyanez elmondható a PCV3 esetében is, hiszen igen gyakran szubklinikai fertőzés formájában cirkulál a tünetmentes sertésállományokban (Zhai és mtsai, 2017; S. Chen és mtsai, 2021). Emellett a PCV3-fertőzés különböző komplex kórképek kialakulásához vezethet, amelyek más sertéspatogének által kiváltott betegségekhez hasonló elváltozásokat okoznak, így csupán a klinikai tünetekre nem lehet hagyatkozni a diagnózis felállításakor (Saporiti, Franzo, és mtsai, 2021; Kroeger és mtsai, 2022).

A PCV2 elleni vakcinák kereskedelmi forgalomban 2006 óta érhetők el, alkalmazásuk jelentősen lecsökkentette a fertőzés okozta gazdasági károkat, mivel szignifikánsan mérsékelte a PCV2-fertőzés okozta elváltozások és klinikai tünetek kialakulását (Segalés, 2015). Világszerte jelenleg öt különböző típusú vakcinát forgalmaznak, amelyek mindegyike a PCV2a genotípuson alapszik és inaktivált vírust vagy baculovírusban kifejeztetett kapszidfehérjét tartalmaz. Nemrégiben viszont kereskedelmi forgalomba hozatali engedélyt kapott az első, PCV2d törzs kapszidfehérjét tartalmazó vakcina (Circloc® M Hyo, Ceva

Animal Health), amely várhatóan 2025 első negyedévében válik majd elérhetővé az európai piacon. Továbbá különböző kísérleti vakcinák, mint a PCV2a–PCV2b kiméra, PCV2-nukleinsav, multivalens, illetve vírus-vektor vakcinák is fejlesztés alatt állnak annak érdekében, hogy szélesebb körű védeettséget nyújtsanak és egyszerűsítsék a vakcinázási eljárásokat (J. Guo és mtsai, 2022). A vakcinázott állományokban a termelési mutatók jelentős javulását tapasztalták mint megnövekedett ADG, húskitermelés, takarmányhasznosulás (feed conversion ratio, FCR) és lecsökkent gyógyszerköltségek (Horlen és mtsai, 2008). Másrésről a széleskörű vakcinázás hatására bekövetkezett genotípusváltások, és a genotípusok növekvő száma miatt a diagnosztika során fontos a különböző vírustörzsek megfelelő azonosítása a helyes védekezési stratégia kidolgozása érdekében. Jelenlegi ismereteink alapján, a számos leírt PCV2 genotípus ellenére, a vírusnak csak egyetlen szerotípusa van. Ezzel magyarázható, hogy a jelenleg használatos vakcinák megfelelő védelmet képesek biztosítani a vírussal szemben (Franzo & Segalés, 2020).

Habár egyre több kutatási eredmény is alátámasztja a PCV3 kórokozóképességet, jelenleg nincsenek elérhető vakcinák a vírus ellen, a vakcinafejlesztési kutatások kezdeti fázisban vannak. A PCV3 és a PCV2 gyakran cirkulál együttesen a sertésállományokban, ám a PCV2 elleni vakcinák, feltehetően az ORF2 génen tapasztalt jelentős genetikai távolság miatt, nem nyújtanak keresztvédelmet a PCV3 fertőzéssel szemben (Woźniak, Milek, Baska, és mtsai, 2019). Figyelembe véve a PCV3 és PCV4 széleskörű elterjedtségét, gyors evolúciós sebességét és a lehetséges károkat, amelyeket a sertésiparban okozhatnak, a jövőben szükséges lehet megfelelő védekezési stratégiákat kidolgozni az új sertéscircovírusokkal szemben is.

5.6.2 Sertésparvovírusok

Mivel a PPV1 által okozott szaporodásbiológiai problémákat nem lehet gyógyítani, így azokon a sertéstelepeken, ahol szaporítási tevékenységet is folytatnak, a szigorú biobiztonsági előírások betartása és a vírus elleni vakcinázás széles körben elterjedt gyakorlat. Az első, inaktivált NADL-2-törzsből származó vakcinák az 1980-as években váltak kereskedelmi forgalomban is elérhetővé (Joo & Johnson, 1977; Mengeling és mtsai, 1979; Streck, Homeier, Foerster, & Truyen, 2013). Az újabb, virulens törzsek és a nem virulens NADL-2 alapú vakcinatörzsek közötti viszonylag kismértékű szekvencia-azonosság azonban kérdéseket vetett fel a jelenleg használt vakcinák hatékonyságát illetően (Zeeuw és mtsai, 2007). Az elmúlt években többféle PPV1-elleni vakcinát is kifejlesztettek, például attenuált NADL-2-törzsen alapuló vagy rekombináns DNS-technológiával előállított vakcinákat (Martínez és mtsai, 1992; Garcia-Morante és mtsai, 2020), ám a jelenleg elérhető vakcinák hatékonyságáról az újonnan felfedezett 27a-szerű PPV1-törzsekkel szemben ellentmondásos

adatok állnak rendelkezésünkre. Nemrégiben azonban kimutatták, hogy a régebben fejlesztett vakcinák, ill. az újabbak közül a K22 vírustörzsön alapuló, valamint a 27a genotípuson alapuló inaktivált vakcina is teljes védelmet biztosított a PPV1-27a típussal szemben (Foerster és mtsai, 2016; Kiss és mtsai, 2020; Jóźwik és mtsai, 2009).

Az eddigi adatok alapján valószínűsíthető, hogy a PPV1 és az újonnan leírt PPV-k között nem alakul ki keresztvédelem, ami arra utal, hogy a jövőben az újabb PPV1-törzsek és a PPV2–PPV8 komolyabb figyelmet igényelhetnek. Tovább bonyolítja a járványvédelmet, hogy az anyakocák ellenanyagai nem jutnak át a placentán, így a malacok maternalis immunitása kizárólag a kolosztrumban található antitestek révén alakul ki (Mészáros, Olasz, és mtsai, 2017). Ennek a sikeréhez azonban elengedhetetlen a megfelelő dajkásítási gyakorlat betartása.

6 Anyagok és módszerek

6.1 Mintagyűjtés

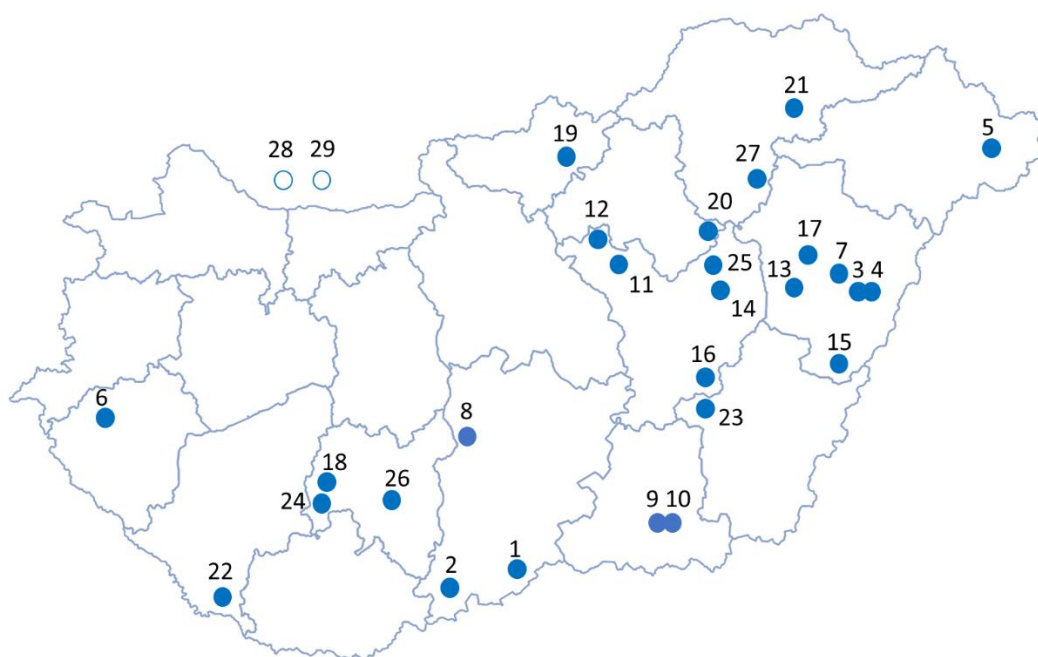
Egy átfogó keresztmetszeti mintavételezési protokoll alkalmazásával (etikai engedély száma: PE/EA/544-5/2018) 2020 és 2023 között összesen 27 nagylétszámú magyarországi sertéstartó telepről gyűjtöttünk korcsoportonként vérsavó-, rágókötel- és herélésifolyadék-mintákat. A telepek részvétele a mintavételi kampányban önkéntes volt, de a felmérés során igyekeztünk lefedni az ország minden részét, különös tekintettel a legjelentősebb sertéstartással foglalkozó régiókra. A mintázott telepek földrajzi elhelyezkedését Magyarország térképén a 4. ábra szemlélteti. Látható, hogy főképp az Alföldön, illetve az észak-magyarországi és délnyugat-dunántúli régiókban találhatóak a vizsgálatunkban részt vett sertéstartó telepek.

Az egyes telepek különböztek az állatok létszámában, az alapvető termelési paraméterekben, hizlalási és szaporodásbiológiai mutatókban, továbbá az állatok genetikájában. A kocaállományok mérete 520 és 2200 között mozgott. A mintavételezések idején kérdőív formájában felmértük a fontosabb adatokat, amelynek az eredményeit a 8. és 9. táblázat foglalja össze (az eredmények fejezetben). A mintagyűjtés ideje alatt a vizsgált állományokban nem jelentettek járványkitörést, valamint kifejezett klinikai tünetekről sem számoltak be.

Minden állományból 100 vérsavómintát gyűjtöttünk, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 18 hetes állatokból, valamint tenyész kocasüldőkből és 2, illetve 4 alkalommal fiatal kocákból korcsoportonként 10–10 mintát. Ezenkívül minden telepen 10 rágókötelmintát (oral fluid) is gyűjtöttünk: 5 mintát az utónevelőből 8–12 hetes malacoktól, és 5 mintát a hizlaldából 18–20 hetes hízóktól. A mintagyűjtés során az adott állatcsoport fölé lógattunk egy erre a célra kialakított pamutkötelet 15–20 percre, amit minden egyednek lehetősége volt megrágni. Ezután a köteleket egy műanyag zacskóba helyeztük, kipréseltük a folyadéktartalmát és egy műanyag csőbe öntve szállítottuk a laboratóriumi vizsgálat helyére. Ez a nem invazív mintavételi módszer gyors, egyszerű és költséghatékony, továbbá megfelelően reprezentatív is. A harmadik felhasznált mintatípusból, a herélésifolyadékból (processing fluid) telepenként 5 mintát gyűjtöttünk. Az almok herélése során egy mintavevő zacskókba körülbelül 10 alomból származó, 3–5 napos kan malac heréit helyezték, majd a vizsgálatokhoz a zacskó alján összegyűlt savószerű folyadékot használtuk fel. Telepenként általában összesen 5 herélésifolyadék-mintát, vagyis összesen körülbelül 50 almot vizsgáltunk meg. A vérsavó-, rágókötel- illetve herélésifolyadék-minták száma egyes esetekben eltért a leírtaktól: a begyűjtött minták típusát és számát a 2. táblázat foglalja össze. Összesen 2505 vérsavó-, 218

rágókötel- és 111 herélésifolyadék-mintát gyűjtöttünk, amelyeket –80 °C-on tároltunk a további feldolgozásig.

Ezen minták mellett két, a határhoz közeli, szlovákiai sertéstelepről is érkeztek hozzánk minták diagnosztikai célra, amelyek eredményeit a magyarországi helyzetre vonatkozó átfogó elemzésbe természetesen nem vettük bele, hanem külön eredményként kezeltük őket. Továbbá PCV3-pozitív diagnosztikai boncolásokból szerv- és szövetmintákat gyűjtöttünk genommeghatározás céljából. Összesen négy különböző sertéstartó telepről származó, 16 igazoltan PCV3-pozitív mintát vizsgáltunk meg, amelynél a klinikai tünetek és a detektált elváltozások összhangban voltak az eddig ismert PCV3 okozta elváltozásokkal.



4. ábra. A felmérésünkben résztvevő magyarországi sertéstelepek elhelyezkedése Magyarországvaktérképén.

2. táblázat. A begyűjtött vérsavó-, rágókötel- és herélésifolyadék-minták száma telepenként.

Telepek	Savó minták	Savó poolok	Rágókötel	Herélésifolyadék
Farm 1	100	20	10	5
Farm 2	100	20	10	4
Farm 3	100	20	0	0
Farm 4	100	20	12	10
Farm 5	100	20	10	5
Farm 6	100	20	10	8
Farm 7	85	17	0	3
Farm 8	130	26	10	2

Farm 9	100	20	10	5
Farm 10	100	20	10	5
Farm 11	80	16	8	5
Farm 12	100	20	9	5
Farm 13	100	20	10	5
Farm 14	60	12	10	5
Farm 15	100	20	10	5
Farm 16	160	32	0	0
Farm 17	100	20	10	5
Farm 18	60	12	4	4
Farm 19	100	20	10	5
Farm 20	100	20	10	3
Farm 21	70	14	10	2
Farm 22	100	20	10	5
Farm 23	100	20	10	9
Farm 24	100	20	10	5
Farm 25	90	18	10	1
Farm 26	70	14	5	0
Farm 27	0	0	10	5
Összesen (Magyarország)	2505	501	218	111
Farm 28	100	20	10	5
Farm 29	75	15	5	4
Összesen (Szlovákia)	175	35	15	9

6.2 Mintafeldolgozás, DNS-kivonás

Az azonos korcsoportból származó vérsavómintákat ötösével pooloztuk, vagyis a DNS-kivonás előtt azonos mennyiségeket (100–100 µl) összemértünk egy steril Eppendorf csőbe. A rágókötel- és herélésifolyadék-mintákat lecentrifugáltuk (300×g, 3 perc), és a mintatípus kollektív jellegéből kifolyólag egyedileg vizsgáltuk. A PCV3 klinikai esetekből begyűjtött szerv- és szövetmintákat először homogenizáltuk a TissueLyser II (Qiagen, Hilden, Germany) használatával, majd 300×g-vel 3 percig centrifugáltuk. A nukleinsavkivonást QIAcube nukleinsavizoláló automatával (Qiagen) a QIAmp cador Pathogen Mini Kit (Qiagen) használatával végeztük el a gyártó protokollja alapján. A savó-, rágókötel- és herélésifolyadék-mintákból, valamint a szövethomogenizátumok felülúszójából 200–200 µl-t használtunk fel a DNS-kivonás céljából és a kinyert nukleinsav-izolátumokat a további vizsgálatokig –80 °C-on tároltuk.

6.3 qPCR

Az egyes mintákból a különböző vírusok örökítőanyagának detektálását Taqman (PPV1–PPV8, PCV3), illetve SBYR Green alapú (PCV2, PCV4) kvantitatív real-time PCR (qPCR) módszerrel végeztük, a 3. táblázatban összefoglalt specifikus primerpárok és fluoreszcensen jelölt próbák alkalmazásával. A reakciókat Q qPCR (Quantabio, Beverly, MA,

USA) készüléken futtattuk le. A fluoreszcenciaadatokat a ciklusok utolsó lépése során gyűjtöttük: a SYBR Green alapú reakciók és a FAM (6-karboxifluoreszcein) festék esetében 520 nm-es, a HEX (hexakloro-fluoreszcein) festék esetében pedig 556 nm-es kibocsátási hullámhosszon a készülék zöld, illetve sárga csatornáját használva.

3. táblázat. A qPCR-reakciókhoz használt specifikus primerek és próbák.

Primerek/próbák	Szekvenciák (5'-3')	Referencia
PPV1F PPV1R PPV1-Probe	5'-CAGAATCAGCAACCTCACCA-3' 5'-GCTGCTGGTGTGTATGGAAG-3' FAM-5'-TGCAAGCTTAATGGTCGCACTAGACA-3'-BHQ	(J. R. Prickett és mtsai, 2011)
PPV2F PPV2R PPV2-Probe	5'-TACTGAGCCCTAAGACTGACTACAAGC-3' 5'-GTTTGTCTCGTTGTTTCGTCTGATG-3' HEX-5'-AACTGCTACATGAACCACTTTACCCCTC-3'-BHQ	(Xiao, Gerber, és mtsai, 2013)
PPV3F PPV3R PPV3-Probe	5'-CAYGAYGAACGGTACGATGAAAT-3' 5'-GCGGTAAAACCTGTGAWAWTTGAAC-3' HEX-5'-TAGGTTGATGAATAAGGAGATAGAGAGGGCGG-3'-BHQ	(Xiao és mtsai, 2012)
PPV4F PPV4R PPV4-Probe	5'-GCATTGGTGTGTGTCTGTGTCC-3' 5'-GTGGCACATTTGTACATGGGAG-3' FAM-5'-CTCCGCGGGATGTGCTTACAATTTTCA-3'-BHQ	(Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013)
PPV5F PPV5R PPV5-Probe	GCATTGGTGTGTGTCTGTGTCC GTGGCACATTTGTACATGGGAG HEX-5'-ACTTTGGTGTGAGGGACTTAGCTTTTTGTAC-3'-BHQ	(Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013)
PPV6F PPV6R PPV6-Probe	5'-GGCTTCATAATCCCTCCAAAACCT-3' 5'-GCTCATCTTCCTCTTGTCTCTCCTG-3' FAM-5'-CCTCCTCCTCCTCCCTCTCCAATTCCT-3'-BHQ	(Cui, Fan, és mtsai., 2017)
PPV7F PPV7R PPV7-Probe	5'-AGCAGAGACAAACACAGACG-3' 5'-CCAGTTTGCATTGTTCCCATC-3' FAM-5'-CAGGCAGTGGTAGTGAAGGATCCC-3'-BHQ	(R. Palinski, 2016)
PPV8F PPV8R PPV8-Probe	5'-GCATGATGCCATACACACC-3' 5'-TGTCTTGTGCTTGTCTTGTG-3' HEX-5'-TGGAACCCTTTCGTTCTCCAATCTACAA-3'-BHQ	Saját tervezés
PCV2F (CBB2) PCV2R (CSZ2)	5'-CGCACCTTCGGATATAC-3' 5'-GGAGGAGTAGTTTACATAGGGG-3'	(Cságola és mtsai, 2006; Lőrincz, 2014)
PCV3F PCV3R PCV3-Probe	5'-TGACGGAGACGTCGGGAAAT-3' 5'-CGGTTTACCCAACCCCATCA-3' FAM-5'-GGGCGGGGTTTGCGTGATTT-3'-BHQ	(Franzo, Legnardi, Centelleghé, és mtsai, 2018)
PCV4F PCV4R	5'-CCTCCACTTCCAGCCTAACA-3' 5'-GTCCACACCTGCACAAAGTT-3'	(Nguyen és mtsai, 2021)

A PCV2 és PCV4 detektálása SYBR Green alapú qPCR módszerrel történt, ugyanazon protokoll alapján. Minden reakcióelegy végtérfogata 20 µl volt, amely az 4. táblázatban látható mennyiségekben tartalmazott Perfecta SYBR Green Fastmix-et (Quantabio, Beverly, MA, USA), templát DNS-t, primereket (3. táblázat) és RNáz-mentes steril vizet. A reakcióelegy összemérése után a PCR-reakciót a következő programon futtattuk le: egyszeri denaturációs lépés 95 °C-on 30 másodpercig, majd 40 cikluson át 5 másodpercig 95 °C-on és 20 másodpercig 60 °C-on tartás. Az utolsó ciklust követően a 60 °C-ról 0,3 °C/s-os sebességgel 95 °C-ig emeltük a hőmérsékletet a pozitív minták olvadáspont-hőmérsékletének meghatározása érdekében.

4. táblázat. A PCV2 és PCV4 vizsgálata során végzett reakciók összeállítása.

Komponens	20 µl végső térfogatban	Végső koncentráció
Perfecta SYBR Green Fastmix	10 µl	2×
10 µM forward primer	0,6 µl	0,3 µM
10 µM reverse primer	0,6 µl	0,3 µM
RNáz-mentes víz	3,8 µl	
Templát DNS	5 µl	

A PCV3, PPV7 és PPV8 detektálása Taqman-próbás qPCR-módszerrel történt. A reakcióelegyek 20 µl végső térfogaton tartalmaztak az 5. táblázatban összefoglalt komponenseket: PerfeCTa qPCR ToughMix-et (Quantabio), templát-DNS-t, primereket és próbákat (3. táblázat), valamint RNáz-mentes steril vizet. A hőmérsékleti profil, amin lefuttattuk hasonló volt a három vírus esetében: egyszeri 95 °C-on tartás 3 percig, majd 45 cikluson keresztül 10 másodpercig 95 °C-on (PCV3 és PPV8) / 94 °C-on (PPV7) és 30 másodpercig 60 °C-on tartás.

5. táblázat. A PCV3, a PPV7 és a PPV8 vizsgálata során végzett reakciók összeállítása.

Komponens	20 µl végső térfogaton	Végső koncentráció
PerfeCTa qPCR ToughMix	10 µl	2×
10 µM forward primer	1 µl	0,5 µM
10 µM reverse primer	1 µl	0,5 µM
10 µM specifikus próba	0,5 µl	0,25 µM
RNáz-mentes víz	5,5 µl	
Templát DNS	2 µl	

A PPV1–PPV6 esetén egy reakcióelegyen belül 2 vírust vizsgáltunk egyszerre, duplex Taqman-próbás qPCR módszerrel PPV1–PPV2, PPV3–PPV6, PPV4–PPV5 bontásban (Milek és mtsai, 2019a). A reakcióelegy mindhárom esetben összesen 25 µl térfogatot tett ki, és a 6.

táblázatban látható mennyiségeket tartalmazott az alábbiakból: PerfeCTa MultiPlex qPCR SuperMix (Quantabio), templát DNS, korábban publikált specifikus primerpárok a két vizsgált vírusra, két különböző fluoreszcensen jelölt próba (FAM-HEX jelölt próbák páronként) (3. táblázat), és RNáz-mentes víz a megfelelő végtérfogat elérése érdekében. A hőmérsékleti profil a vizsgálat során a következő volt: egyszeri 50 °C-on tartás 2 percre, majd 95 °C-on tartás 10 percre, ezt követően 40 cikluson keresztül 95 °C-on tartás 15 másodpercre, majd 60 °C-on tartás 60 másodpercre.

6. táblázat. A PPV1–PPV6 vizsgálata során végzett reakciók összeállítása.

Komponens	25 µl végső térfogaton	Végső koncentráció
PerfeCTa MultiPlex qPCR SuperMix	12,5 µl	2×
10 µM forward primer 1 (PPV1/PPV4/PPV6)	0,75 µl	0,3 µM
10 µM forward primer 2 (PPV2/PPV3/PPV5)	0,75 µl	0,3 µM
10 µM reverse primer 1 (PPV1/PPV4/PPV6)	0,75 µl	0,3 µM
10 µM reverse primer 2 (PPV2/PPV3/PPV5)	0,75 µl	0,3 µM
10 µM próba 1 (FAM: PPV1/PPV4/PPV6)	0,625 µl	0,25 µM
10 µM próba 2 (HEX: PPV2/PPV3/PPV5)	0,625 µl	0,25 µM
RNáz-mentes víz	3,25 µl	
Templát DNS	5 µl	

A PCR-reakciók specifitásának ellenőrzésére szolgáló pozitív kontroll minták minden esetben az adott vírusra igazoltan pozitívak voltak. A PPV1–7-pozitív mintákat a Varsói Élettudományi Egyetem Állatorvostudományi Karának munkatársaitól (Prof. Tomasz Stadejek-től) kaptuk. A PCV2 és PCV3 esetében igazoltan pozitív diagnosztikai eseteket használtunk. A pozitív kontrollhoz szükséges PCV4-oligonukleotidot pedig mesterségesen szintetizáltattuk. A PPV8 esetében nem volt pozitív kontrollunk. A Guo és mtsai által leírt módszerrel (Y. Guo és mtsai, 2022) az első körös diagnosztikai tesztek során pozitívnak bizonyuló minták esetében szekvenciameghatározási reakciókat végeztünk így alátámasztva a pozitív eredményt, majd a továbbiakban ezeket használtuk.

6.4 Szekvenciameghatározás

Az alacsony Ct-értékeket mutató (a pozitív minták Ct értékeinek eloszlásától függően 25–30 alatti) pozitív vérsavópoolokat felbontottuk, és az ide tartozó mintákat egyedileg izoláltuk és vizsgáltuk qPCR-módszerrel. A PCV3 esetében a teljes vírusgenomot határoztuk meg, míg a PPV1, PPV2, PPV3, PPV4, PPV8 és PCV2 vírusok esetében a kapszid fehérjét kódoló ORF2 (VP) gént, a PPV5, PPV6 és PPV7 esetében pedig a nemstrukturális fehérjét kódoló ORF1 (NS1) gén szekvenciáját határoztuk meg. Minden reakció során 5 µl templát

DNS-t adtuk a következő keverékhez: 5× Phusion™ GC Buffer (Thermo Scientific™, Waltham, MA, USA), 200 µM dNTP, 1–1 µM a megfelelő primerpárokból, és 0,5 U Phusion™ High-Fidelity DNS-polimeráz enzim. A következő hőmérsékletprofilt használtuk: 98 °C 30 másodperc, majd 98 °C 10 másodperc, 65 °C 20 másodperc és 72 °C 45 másodperc 45 cikluson keresztül majd egy végső elongációs lépés 72 °C 5 percig. A szekvenálási reakciókhoz használt primerpárok és a hozzájuk tartozó tapadási hőmérsékletek a 7. táblázatban találhatóak. A PCR-reakciókhoz egy Genesy 96T (Tianlong, Kína) típusú PCR-gépet használtunk.

A PCR-termékeket agarózgél-elektroforézissel választottuk el és tettük láthatóvá. A megfelelő méretű amplikonokat tartalmazó géldarabokat steril szikével kivágtuk, majd a DNS-extrakciót QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) segítségével végeztük el a gyártó utasításait követve. A kivágott géldarabokat egy steril Eppendorf-csőbe helyeztük, amelyhez 800 µl QG pufferoldatot pipettáztunk, majd 50 °C-on inkubáltuk 10 percig, vagy amíg a gél teljesen fel nem oldódott. A nukleinsavminták tisztítását ezután a szilikamembrán alapú, spin oszlop technológiával végeztük, amelyet végül 40 µl eluálási pufferben (EB) eluáltunk.

Az amplikonok közvetlen Sanger szekvenálásához mindkét irányban a BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit-et (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) használtuk. A PCR-termékek tisztítására és koncentrálására a DNA Clean & Concentrator®-5-öt (Zymo Research, Irvine, CA, USA) használtuk. Az így előkészített minták kapilláris-elektroforézisét egy erre szakosodott laboratóriumban végezték el az Eurofins BIOMI Kft.-nél (Gödöllő, Magyarország).

7. táblázat. A szekvenáló PCR-reakciókhoz használt primerek.

Primerek	Primer szekvencia (5'-3')	Tm (°C)	Régió	Referencia
PPV1				
F2030	ACCAACCTGCACTTAACTCC	63	VP	(Cadar és mtsai, 2012)
R3000	GTGTGTGTGCATCGTCTTGT			
F2562	GAGGTAAGAAGATCGCCGAG	62		
R3698	TCCTACCTGAGCTGGCCTAA			
F3570	CTACCACAGAAGGAGACCAA	57		
R4498	ATTGAAGTATACAATGATAGTAGT			
PPV2				
F1923	GGACGTCGAGGAGGAACCAA	66	VP	(Cadar, Cságola, és mtsai, 2013)
R3278	CTTCCTCGGCATCTGCAAGC			
F3171	AACACGATGAGCGGTACGAC	65		
R4354	ATGACGGAGGTTCAACGTGC			
F3970	CGTACATCAGACGAACAACG	61		
R5358	TATACACGATGAGCGCGTCC			

PPV3				
F2011	TTGGAGGTACCGGCAGA	60	VP	(Lagan Tregaskis és mtsai, 2021)
R3006	TCATCGTACCGTTCATCG			
F2859	GTGAACCAGACCTTGAACG	61		
R3974	GAGACCATGTATCACCGGA			
F3844	TGGCTATCTTACTCGAGGAC	61		
R5112	ATGAGCTGGCCTTGTAGAC			
PPV4				
F3270	AGCCTGATAGCATTCCGCAAC	66	VP	(Lagan Tregaskis és mtsai, 2021)
R4088	TCAGCTCCAGCATTCTGCGT			
F3966	TCCTCAGAGTCCTAATGCAC	61		
R5107	CGCTGGAGAAGAGATAGGTA			
F5090	CCTATCTCTTCTCCAGCGA	60		
R5861	TATCATCTGCGGTGTCTG			
PPV5				
PPV5-1-F	ATTTGCGTTTTGGAGACCGT	64	NS1	Saját tervezés
PPV5-1-R	TGTAGCAGGACCGTAAAACCA			
PPV5-2-F	TGTACAGTGGTTGGTGGACA	64		
PPV5-2-R	TGCACATATCACCAATTTGCTCT			
PPV6				
PPV6-1-F	CGAAAGCCTCTGTATTATGTCT	60	NS1	(Cui, Fan, és mtsai, 2017)
PPV6-1-R	TTGCGTTATTCCAGTTAACAC			
PPV6-2-F	TGTTTGGACCTGCTACAACCG	63		
PPV6-2-R	TTAAACCCCTGAACACCGGAA			
PPV7				
PPV7-2F	TAACCAGACGAGACAAGAG	59	NS1	(R. Palinski, 2016)
PPV7-2R	TGTCTTGCATGGACCAGTTAT			
PPV7-3F	CAGGGAGCCTGATGGAATAC	61		
PPV7-3R	CTGGATCTGCGAACGAAC			
PPV7-4F	GCCAAGTGCCGGGAGGACAAC	69		
PPV7-4R	TGGTGCTGGTGCCCTCGA			
NS1mpF	GCCGGCCAAGTACAAGAAACCACA	71		(Milek és mtsai, 2018)
NS1mpR	CCCACCGGATCCCCACTCGTC			
PPV8				
PPV8inF	TCCAAGTTGCCCTAGACAGC	64	VP	(Y. Guo és mtsai, 2022)
PPV8inR	GCCTCGTACATGTGGACCT			
PCV2				
C Fw	TCTACTGAGACTGTGTGATCG	57	VP	(Franzo és mtsai, 2015)
C Rev	CTCTGTRCCCTTTGAATACT			
D Fw	GGCGGGAGGAGTAGTTTACATAGGGT C	64		
D Rev	ATTACCCTCCTCGCCAACAA			

PCV3					
74_F	CACCGTGTGAGTGGATATAC	59	teljes- genom	(R. Palinski és mtsai, 2017)	
927_R	CAAACCCACCCTTAACAG				
1303_F	ACCGGAGGGGTCAGATTTAT	63			(Franzo, Legnardi, Hjulsager, és mtsai, 2018)
541_R	GAGCTGCTGCTTGAAGATCC				
817_F	GTTATAATGGGGAGGGTGCT	62			
1647_R	GCCTGGACCACAAACACT				

6.5 Filogenetikai analízis

A kromatogramokat a Chromas 2.6.6 szoftver (Technelysium Pty Ltd, South Brisbane, Ausztrália) segítségével jelenítettük meg. Az egyes szekvenciákhoz tartozó kromatogramok ellenőrzése és a nem megfelelő jelerősségű, zajos részek kivágása után kapott nyers reverse és forward szekvenciákat az online BLAST (NCBI) szoftverrel azonosítottuk. A szekvenciák összeillesztéséhez a MAFFT 7 online szoftver E-INS-I módszerét használtuk (Katoh & Toh, 2008). A filogenetikai elemzést és a filogenetikai fákat MEGAX szoftver használatával készítettük el. Maximum Likelihood (ML) módszert és GTR+G+I nukleotidszubsztitúciós modellt alkalmaztunk, minden esetben 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést (Kumar és mtsai, 2018). A filogenetikai fák elkészítéséhez a GenBank-ból letöltött különböző eredetű referencia-szekvenciákat használtuk. Az elemzés során minden vírus esetében a szekvencia-adatokra leginkább illeszkedő modellt alkalmaztuk: a PPV1, PPV4, PPV5 és PCV2 esetében a Hasegawa-Kishino-Yano modellt, a PPV2 esetében Tamura 3-paraméter modellt, a PPV3 és PPV6 esetében Kimura 2-paraméter modellt, a PPV7 esetében a General Time Reversible (GTR) modellt, a PCV3 esetében pedig a Tamura-Nei modellt. Az egyes szubsztitúciós modelleket a MEGAX programmal választottuk ki az Akaike- és Bayes-információs kritériumok alapján. A PPV8 esetében Neighbor-Joining (NJ) módszerrel, p-távolság alapú modell alkalmazásával készült a filogenetikai fa, amelynek szerkezeti felépítését szintén 1000 bootstrap-ismétléssel támasztottuk alá. A filogenetikai fák megjelenítéséhez és szerkesztéséhez az Interactive Tree Of Life (iTOL) version 6 online szoftvert használtuk (Letunic & Bork, 2024). Az általunk meghatározott szekvenciák a Genbank-ban a következő akcessziós számok alatt érhetőek el: PP795934.1–PP795938.1 (PCV2), ON015882.1–ON01589.1 (PCV3), PP855497.1–PP855501.1 (PPV1), PP729185.1–PP729190.1 (PPV2), PP729191.1–PP729194.1 (PPV3), PP729195.1–PP729198.1 (PPV4), PP729199.1–PP729203.1 (PPV5), PP729204.1–PP729207.1 (PPV6), PP729208.1–PP729211.1 (PPV7), PP781989.1–PP781999.1 (PPV8).

Az egyes vírusok aminosavsorrendjének összehasonlító elemzését, a szekvenciaadatok ábrázolását és szerkesztését a Jalview (verzió 2.11.4.0) szoftverrel

végeztük (Waterhouse és mtsai, 2009). A variábilis régiók és aminosavmutációk kiemeléséhez, valamint az aminosavak típusainak megkülönböztetésére a program Clustal X alapértelmezett színsémáját alkalmaztuk. A „Conservation” annotáció maximális értéke alatti pozíciók kerültek kiemelésre, annak érdekében, hogy az eltérések könnyebben azonosíthatóak legyenek. A hidrofób aminosavak kék, a pozitív töltésűek piros, a negatív töltésűek mályvaszín, a poláris aminosavak zöld, a ciszteinek rózsaszín, a glicinek narancssárga, a prolinok sárga, míg az aromás aminosavak türkizkék színt kaptak. Az egyes motívumokat és nemkonzervált régiókat pedig fekete bekeretezéssel emeltük ki. Ez a színkódolás jól áttekinthetővé teszi az aminosavak eloszlásának vizsgálatát. Az elemzés során négy különböző annotálási tulajdonságot is megjelenítettünk a Jalview program beállításai alapján. A „Conservation” segítségével számszerűsítettük az egyes oszlopokban konzervált fiziko-kémiai tulajdonságokat, amelyeket a program az AMAS módszer alapján számít, így információt nyerve az adott pozíciók stabilitásáról. A „Quality” a BLOSUM 62 mátrixon alapulva méri az adott oszlopban megfigyelt mutációk valószínűségét. A magas minőségpontszám arra utal, hogy az adott pozícióban kevés vagy kedvező mutáció fordul elő. A „Consensus” az oszloponként leggyakoribb aminosav százalékos arányát mutatja, „+” jelölést alkalmazva, ha több aminosav osztozik a leggyakoribb értéken. Az „Occupancy” pedig az adott pozícióban szereplő szekvenciák telítettségét jelzi, segítve a szekvenciák jelenlétének vagy hiányának megfigyelését az egyes pozíciókban.

6.6 Statisztikai elemzés

A vérsavó-, rágókötel- és herélésifolyadék-minták qPCR-elemzéséből nyert eredményeket táblázatos formában rögzítettük. Ezt követően statisztikai elemzést végeztünk a GraphPad Prism 9 szoftverrel (verzió 9.4.1.681, GraphPad Software, Boston, USA) annak érdekében, hogy meghatározzuk az elemzésünk részét képező különböző mintatípusok, illetve korcsoportok közötti szignifikáns eltéréseket. A PPV1–PPV8, PCV2 és PCV3-pozitív minták eloszlásának összehasonlító statisztikai elemzését Fisher-féle egzakt teszttel végeztük, 95%-os konfidenciaszinten. A különböző mintatípusok és a különböző korcsoportba tartozó állatok pozitív mintáinak Ct-értékeit Mann–Whitney-teszttel vizsgáltuk. A statisztikai szignifikancia szintjét minden esetben $p < 0,05$ értéknél állapítottuk meg.

A termelési mutatók elemzéséhez először minden állomány vizsgálatakor az egyes vírusok PCR-eredményeit bináris (pozitív/negatív) formában rögzítettük. Akkor tekintettünk pozitívnak egy telepet, amennyiben legalább egy PCR-pozitív mintát találtunk. Ezt követően az 8. táblázatban feltüntetett átlagértékek alapján az egyes állományokat átlagon felüli vagy átlagon aluli kategóriákba soroltuk a különböző szaporodásbiológiai és hízalási mutatók szerint. Az egyes vírusok jelenléte és a mutatók átlagosnál rosszabb értékei közötti

összefüggést egyváltozós statisztikai teszttel (Fisher-féle egzakt teszt) vizsgáltuk, a szignifikancia szintjét $p < 0,05$ -ben határoztuk meg. Azoknál a vírusoknál, ahol az előzetes Fisher-próba alapján szignifikáns összefüggést találtunk, a JASP szoftverrel (JASP Team (2024), JASP (Version 0.19.0), Amszterdam, Hollandia) logisztikus regressziós modellt alkalmaztunk a kimutatás esélyhányadosának (odds ratio, OR) és a regressziós együtthatónak (regressziós koefficiens, β) meghatározására. A végső modellben csak azok a vírusok, ill. termelési paraméterek maradtak, amelyek statisztikailag szignifikánsak voltak ($p < 0,05$).

7 Eredmények

7.1 A vizsgált sertéstelepek általános jellemzői és termelési paraméterei

A felmérésben résztvevő sertéstartó telepek 83%-ától (24/29) kaptuk meg a fontosabb termelési paraméterekre vonatkozó adatokat, amelyek kétharmada töltötte ki hiánytalanul az általunk biztosított adatlapot. A mintagyűjtés 2020. szeptembere és 2023. augusztusa között zajlott. A 8. táblázatban összefoglalt adatok alapján a vizsgált állományok méretének tekintetében elmondható, hogy javarészt nagylétszámú sertéstelepeket vizsgáltunk, ahol a kocák létszáma 520 és 2200 között mozgott – összesen két telepen volt kisebb az állatlétszám (320 és 360 koca). A tenyésztett állatok genetikája igen eltérő, a leggyakoribb fajtának a Danbred bizonyult (9/29, 31%), emellett előfordultak még Topigs, Choice genetikájú, Magyar Nagytehén és Magyar Lapály, illetve ezek keresztezéséből kitenyésztett fajok. Az alkalmazott vakcinázási protokollokra vonatkozó kérdőívet a telepek 62%-a töltötte ki (18/29), amelyek mindegyike tartalmazta a PPV1 és a PCV2 elleni védőoltásokat.

A termelési paraméterek közül a főbb hizlalási és szaporodásbiológiai mutatók adatait a 9. táblázatban foglaltuk össze. Az egyes telepeken feljegyzett értékekből átlagot számoltunk, amely alapján két kategóriába soroltuk a telepeket: átlag feletti és átlag alatti teljesítmény. A hizlalási mutatók közül az ADG-t és az FCR-t mértük fel. Az etetési technológiák közül a száraz takarmány bizonyult a leggyakoribbnak (38%), de néhány telepen kombinált (17%) és nedves (10%) etetési módszereket is alkalmaztak. Ez a változatosság is hozzájárulhatott az egyes telepeken tapasztalt eltérő ADG és FCR értékekhez. A szaporodásbiológiai mutatók, mint a született malacok száma, a halva született állatok aránya és az elhullási arányok szintén fontos tényezők lehetnek a vírusfertőzések hatásainak felmérésében. Ezek közül kiemelendő, hogy a telepek több mint 40%-ánál a született malacok száma átlag alatt maradt, ill. a hizlaldákban tapasztalt elhullási arány a telepek 11,5%-ánál kiemelkedően magas volt, amely az átlagértéket jelentősen befolyásolta. Az eltérések hátterében esetlegesen fertőző ágensek is állhatnak, amelyek befolyásolhatják a szaporodási teljesítményt és a malacok életképességét.

8. táblázat. A vizsgált állományok állatlétszáma a mintavételezés időpontjában.

Csoport	Létszám	Telepek száma
Koca	Kis (10–100)	0
	Közepes (100–500)	2 (6,9%)
	Nagy (>500)	20 (69%)
	Nincs válasz	7 (24,1%)
Tenyészkocasüldő	Kis (10–25)	0
	Közepes (25–125)	4 (13,8%)
	Nagy (>125)	16 (55,1%)
	Nincs válasz	9 (21%)

Választott malac	Kis (200–1000)	1 (3,4%)
	Közepes (1000–2500)	5 (17,2%)
	Nagy (>2500)	15 (51,7%)
	Nincs válasz	8 (27,6%)
Hízó	Nincsenek hízők	3 (10,3%)
	Kis (200–1500)	0
	Közepes (1500–5000)	7 (24,1%)
	Nagy (>5000)	10 (34,5%)
	Nincs válasz	9 (31%)

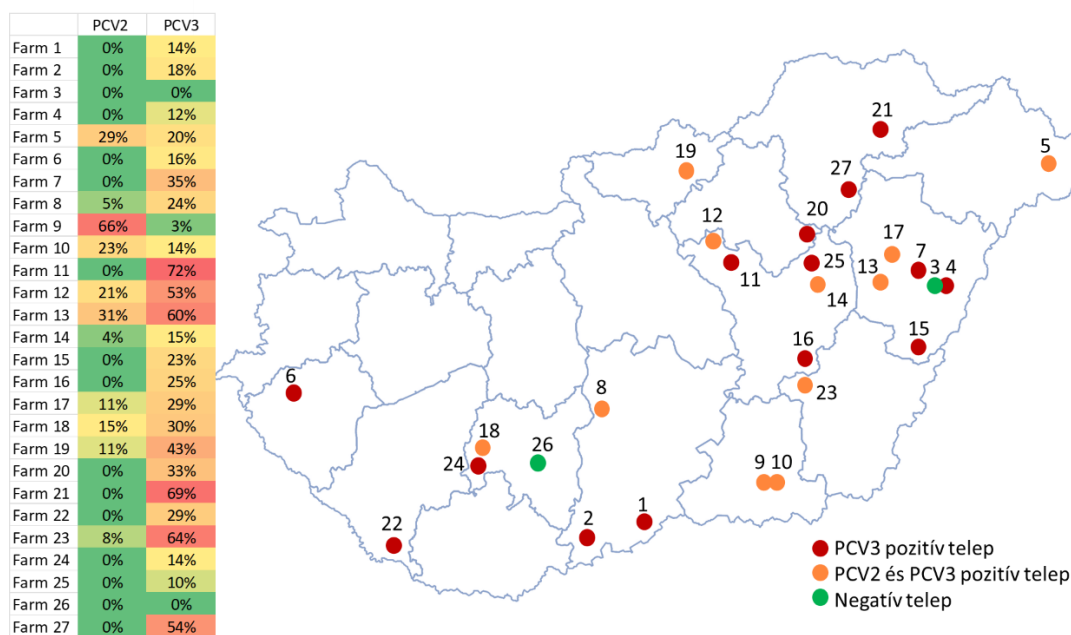
9. táblázat. A vizsgált állományok termelési mutatóinak összefoglalása.

Hízalási mutatók		Kategória	Telepek száma
Napi átlagos testtömeg- gyarapodás (ADG, Average Daily Gain) [g]	Battéria	Átlag alatt (<457 g)	8 (27,6%)
		Átlag felett (>457 g)	11 (37,9%)
		Nincs válasz	10 (34,5%)
	Hizlalda	Átlag alatt (<866 g)	8 (30,8%)
		Átlag felett (>866 g)	6 (23,1%)
		Nincs válasz	12 (46,2%)
Fajlagos takarmányhasznosulás (FCR, Feed Conversion Ratio) [kg takarmány / kg testtömeg- gyarapodás]	Battéria	Átlag alatt (<1,79)	11 (37,9%)
		Átlag felett (>1,79)	6 (20,7%)
		Nincs válasz	12 (41,4%)
	Hizlalda	Átlag alatt (<2,88)	6 (23,1%)
		Átlag felett (>2,88)	9 (34,6%)
		Nincs válasz	11 (42,3%)
Etetési technológia		Száraz	11 (37,9%)
		Nedves	3 (11,1%)
		Kombinált	5 (18,5%)
		Nincs válasz	10 (34,5%)
Szaporodásbiológiai mutatók		Kategória	Telepek száma
Született malac/alom		Átlag alatt (<15,4)	12 (41,4%)
		Átlag felett (>15,4)	8 (27,6%)
		Nincs válasz	9 (31%)
Halva született/alom		Átlag alatt (<1,19)	8 (27,6%)
		Átlag felett (>1,19)	12 (41,4%)
		Nincs válasz	9 (31%)
Vemhesülési %		Átlag alatt (<92,1%)	9 (31%)
		Átlag felett (>92,1%)	9 (31%)
		Nincs válasz	11 (37,9%)
Fialási %		Átlag alatt (<86,3%)	11 (37,9%)
		Átlag felett (>86,3%)	9 (31%)
		Nincs válasz	9 (31%)
Elhullás [%]	Fiaztató	Átlag alatt (<10,7%)	10 (34,5%)
		Átlag felett (>10,7%)	10 (34,5%)
		Nincs válasz	9 (31%)

Battéria	Átlag alatt (<3,01%)	13 (44,8%)
	Átlag felett (>3,01%)	6 (20,7%)
	Nincs válasz	10 (34,5%)
Hizlalda	Átlag alatt (<3,27%)	15 (57,7%)
	Átlag felett (>3,27%)	3 (11,5%)
	Nincs válasz	8 (30,8%)

7.2 A sertéscircovírusok földrajzi elterjedtsége és prevalenciája a magyarországi sertésállományokban

A 27 vizsgált hazai állományból 25-ben (93%) sikerült kimutatni legalább egy sertéscircovírus jelenlétét. A legelterjedtebb a PCV3 volt, amit mind a 25 telepen azonosítottunk legalább egy mintatípusban, míg a PCV2-t 11 telepen (41%) detektáltuk. Mind a 11 PCV2-pozitív telep PCV3-ra is pozitív volt. A PCV4-et egyetlen telepen sem sikerült kimutatni így ezt a vírust az eredmények további bemutatásánál már nem vesszük figyelembe. A 25 PCV-pozitív telepen igen eltérő állományon belüli prevalenciával fordult elő a két vírus, amelyek az 5. ábrán a PCV-pozitív telepek elhelyezkedését ábrázoló térkép melletti táblázatban vannak összefoglalva.

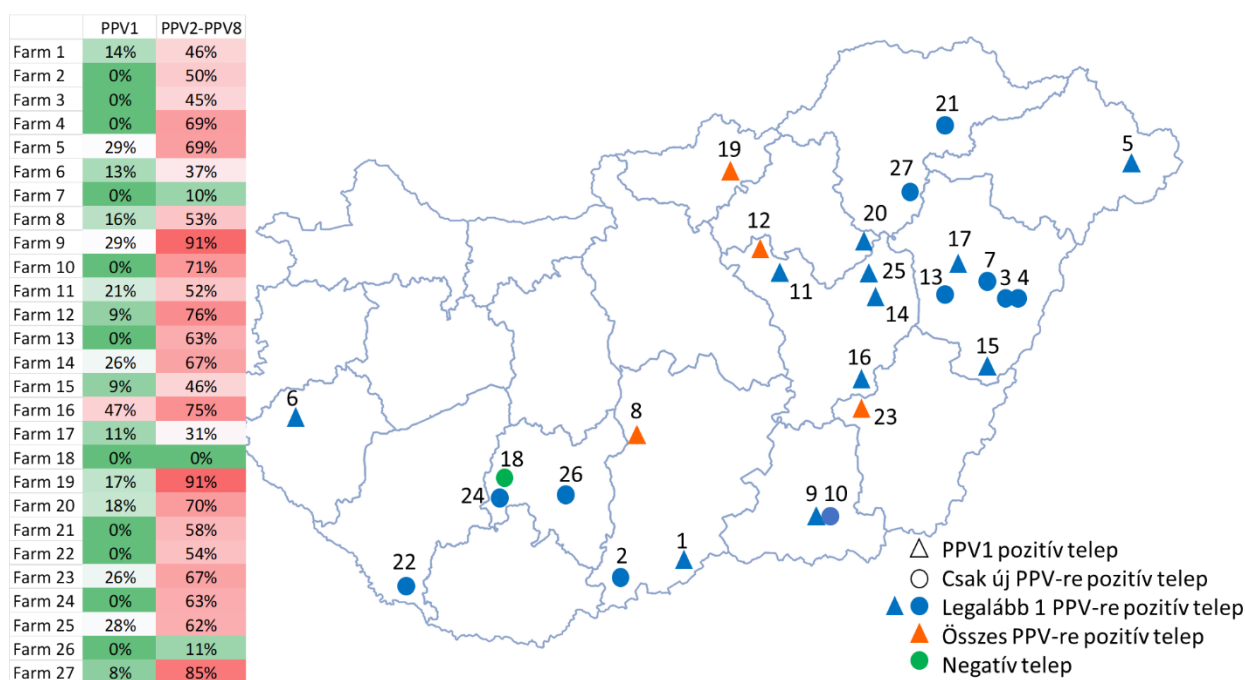


5. ábra. A PCV2- és PCV3-pozitív telepek földrajzi elhelyezkedése.

Az egyes telepeket különböző színnel jelöltük attól függően, hogy csak PCV3-ra (piros) vagy a PCV2-re és PCV3-ra is (narancssárga) pozitívak voltak. Csak PCV2-pozitív telepet nem azonosítottunk, mindegyik állományban előfordult a PCV3 is. A vizsgálat időpontjában negatívnak bizonyult telepeket zöld színnel jelöltük. A PCV-pozitív minták százalékos aránya az egyes telepeken az ábra bal oldalán feltüntetve látható.

7.3 A sertésparovírusok földrajzi elterjedtsége és prevalenciája a magyarországi sertésállományokban

Egy sertéstelep kivételével az összes vizsgált állományban (26/27, 96%) sikerült kimutatni legalább egy sertésparovírus jelenlétét. Legjelentősebb képviselőjüket, a PPV1-et 16 telepen azonosítottuk legalább egy mintatípusban, vagyis a telepeknek több mint a fele (59%) a mintavételezés idejében PPV1-pozitív volt. Az újonnan azonosított PPV-k (PPV2–PPV8) közül 26 (96%) telepen detektáltunk legalább egyet. A 26 PPV-pozitív állományban eltérő arányban és eltérő prevalenciával fordultak elő a különböző vírusok: a 6. ábrán látható 7-es telepen csak PPV2-t, a 26-os telepen pedig csak a PPV8-at sikerült kimutatni. Egy telepen 3 PPV, másik hat telepen 5 PPV, öt telepen 6 PPV és hét telepen 7 különböző PPV együttes cirkulációját mutattuk ki. Négy fertőzött állományban az összes PPV-t sikerült kimutatnunk legalább egy mintatípusban. Az egyes PPV-eket összehasonlítva a PPV1 16 (59%), a PPV2 24 (89%), a PPV3 20 (74%), a PPV4 14 (52%), a PPV5 19 (70%), a PPV6 22 (81%), a PPV7 23 (85%), a PPV8 pedig 15 (56%) telepen fordult elő (1. melléklet).



6. ábra. A PPV1–PPV8-pozitív telepek földrajzi elhelyezkedése.

Az egyes telepeket különböző színnel jelöltük attól függően, hogy csak néhány (1–7) (kék) vagy az összes PPV-re (narancssárga) pozitívak voltak. A PPV1 pozitív telepek kiemelésére eltérő alakzatot (háromszög) használtunk. A vizsgálat időpontjában egyetlen negatívnak bizonyuló telepet zöld színnel jelöltük. A PPV-pozitív minták százalékos aránya az egyes telepeken az ábra bal oldalán feltüntetve látható.

7.4 Egyes vírusok előfordulása a különböző mintatípusokban

A savó-, rágókötel- és herélésifolyadék-minták esetében igen eltérő előfordulási gyakorisággal találtuk meg az egyes vírusokat, ill. a vizsgált állományok között is jelentős eltéréseket tapasztaltunk. Az egyes telepekhez tartozó pontos értékeket a 2–4 mellékletek tartalmazzák. A vérsavóminták esetében az összes vizsgált savópool 9%-a volt PCV2- és 20%-a volt PCV3-pozitív, azonban egyes telepeken a pozitív minták aránya akár a 60–70%-ot is elérte. A PPV-k esetében is hasonló mértékű eltéréseket tapasztalunk: a vizsgált állományokban a PPV-pozitív savóminták aránya 3% és 70% között mozgott, ami arra utal, hogy ezek a vírusok szinte minden vizsgált telepen jelen vannak, bár az állományokon belüli prevalenciájuk igen változó. Összességében a savóminták 8%-a volt PPV1-pozitív, ebben a mintatípusban az újonnan leírt PPV-k közül a leggyakrabban detektált a PPV2 (23%), míg a legritkábban előforduló a PPV8 (3%) volt.

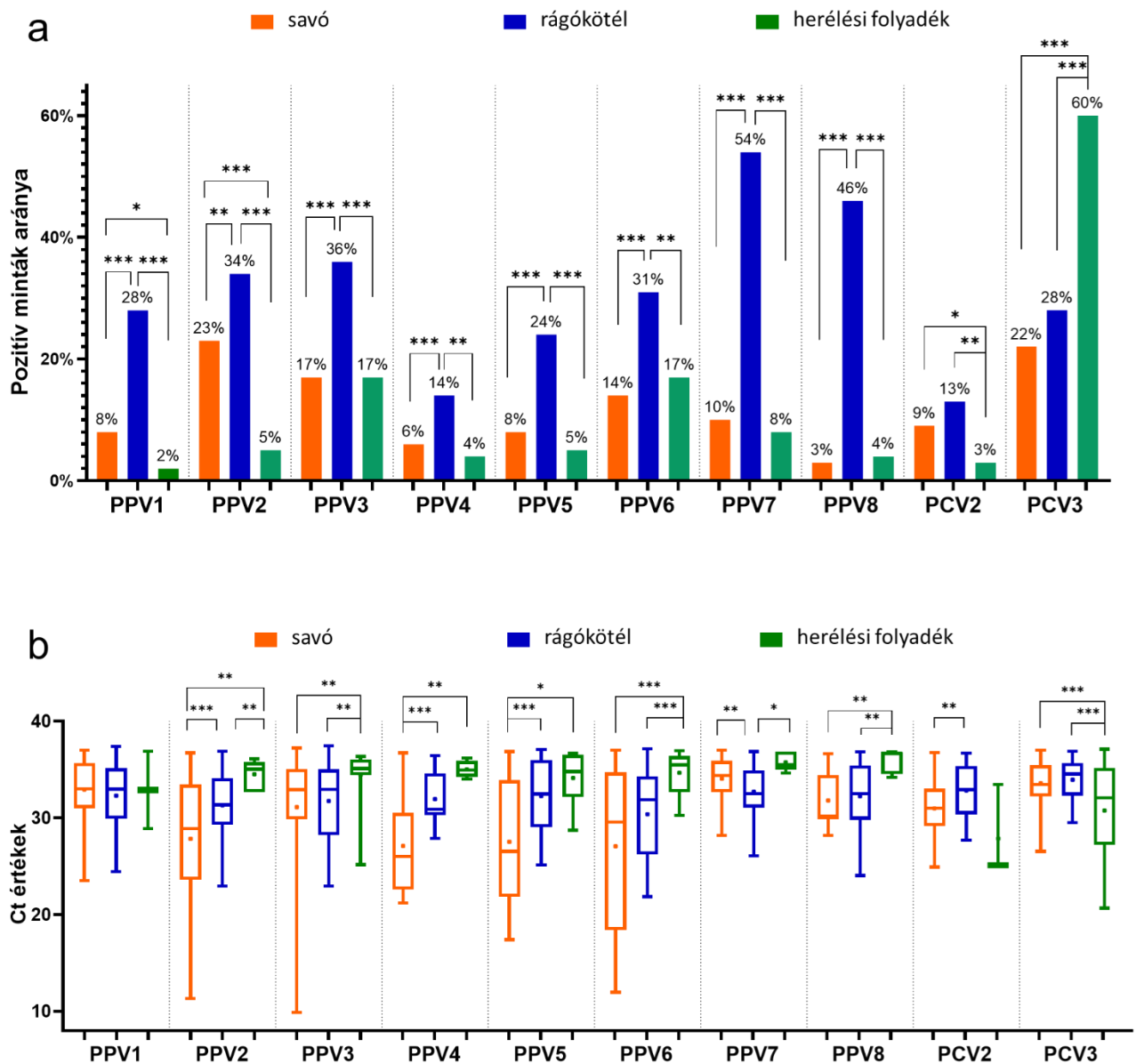
A rágókötelminták 13%-ában sikerült kimutatni a PCV2 és 28%-ában a PCV3 genomjának a jelenlétét. Az egyes pozitív telepeken a PCV2 esetében 10% és 100% közötti, a PCV3 esetében 10% és 88% közötti előfordulási gyakoriságot tapasztaltunk. A PPV-pozitív rágókötelminták arányai összességében igen magasak voltak, 14% (PPV4) és 54% (PPV7) között mozogtak.

A herélésifolyadék-minták jelentős eltérést mutattak a két PCV esetében. Míg a PCV2 DNS-ét csak a minták 3%-ában detektáltuk, 60%-uk pozitív volt PCV3-ra. Összesen két állományban sikerült kimutatni a PCV2-t herélésifolyadék-mintákban is, amelyekben a pozitív minták aránya 20% és 40% volt – míg a PCV3 esetében ez 20% és 100% között mozgott. A különböző PPV-k-re pozitív herélési-folyadékminták arányai 2% (PPV1) és 17% (PPV3, PPV6) között változtak és a pozitív állományokban a PPV-prevalenciák ebben a mintatípusban 10%-tól 100%-ig terjedtek.

Összehasonlítva az egyes diagnosztikai mintatípusokat a PCV2 esetében elmondható, hogy a herélésifolyadék-mintákban jelentősen kisebb mértékben detektáltuk a vírust, mint a két másik vizsgált mintatípusban. Ezzel ellentétben a PCV3-nak szignifikánsan nagyobb az előfordulási aránya a herélésifolyadék-mintákban a másik két mintatípushoz képest. A PPV-k szignifikánsan nagyobb arányban fordultak elő rágókötelmintákban mint savó-, vagy herélésifolyadék-mintákban. A savó- és a herélésifolyadék-minták között nem figyelhető meg számottevő különbség, kivéve a PPV1 és PPV2 esetében, amelyeknél a pozitív savóminták aránya jelentősen nagyobbnak mutatkozott.

A különböző mintatípusokban mért Ct-értékek összehasonlító elemzése eltérő mintázatot mutatott a különböző vírusok vizsgálata során. A PCV-k esetében a pozitív herélésifolyadék-minták Ct-értékei szignifikánsan kisebbek voltak, a savó- vagy

rágókötélmintákhoz képest. Ez utóbbi két mintatípus Ct-értékei között nem volt jelentős eltérés. A herélésifolyadék-minták átlagos Ct-értékei a PCV2 esetében $27,85 \pm 4,87$, a PCV3 esetében $30,76 \pm 4,87$ voltak, ahol az értékek az átlagot és a szórást (standard deviation, SD) reprezenálják. Ezek az értékek a savóminták esetében $30,98 \pm 2,75$ és $33,59 \pm 2,3$, míg a rágókötélminták esetében $32,83 \pm 2,66$ és $33,94 \pm 2,14$ voltak a PCV2- és PCV3-pozitív mintáknál. A PPV-k eredményeit vizsgálva általánosságban elmondható, hogy a savóminták esetében figyeltük meg a legkisebb, míg a herélésifolyadék-minták vizsgálatával a legnagyobb Ct-értékeket. A három mintatípus között a legtöbb esetben statisztikailag is szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk, ahogy az a 7. ábrán látható. A savóminták átlagos Ct-értékei $27,06 \pm 8,05$ (PPV6) és $34,06 \pm 2,24$ (PPV7) között mozogtak. A rágókötélminták esetében kissé nagyobb átlagos Ct-értékeket mértünk, amelyek $29,88 \pm 4,67$ (PPV6) és $32,78 \pm 2,51$ (PPV7) között alakultak. A legnagyobb átlagos Ct-értékeket pedig a herélésifolyadék-mintákban figyeltük meg, $33,61 \pm 2,95$ (PPV5) és $35,87 \pm 1,24$ (PPV8) között.



7. ábra. A vizsgált vírusok előfordulása és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző mintatípusokban.

a) Az egyes vírusok összesített kimutatási arányai a vérsavó-, rágókötél- és herélési-folyadékmintákban. A különböző mintatípusok eltérő színekkel jelölve láthatóak (vérsavó: narancssárga; rágókötél: kék; herélisifolyadék: zöld). b) A vérsavó-, rágókötél- és herélisifolyadékmintákban azonosított pozitív minták Ct-értékeinek eloszlása. A bajusz a minimum és maximum értékeket jelöli, az oszlopon belüli pontok pedig az átlagot. A doboz vízszintes vonalai az első kvartilist, a mediánt és a harmadik kvartilist mutatják. A statisztikailag szignifikáns eltérések az ábrázolt oszlopok és boxplot-ok felett csillagokkal jelölve láthatóak. (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$)

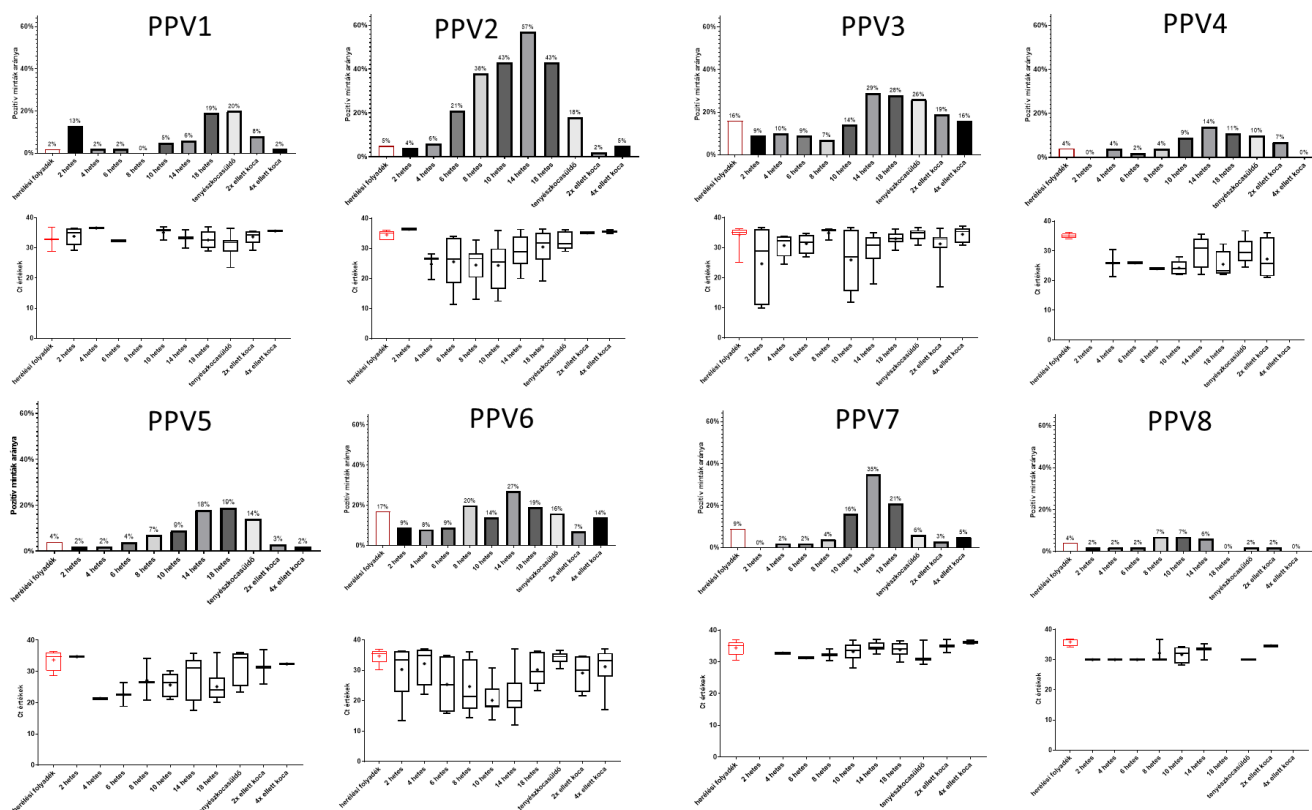
7.5 PCV-k és PPV-k előfordulása az egyes korcsoportokban

Majdnem az összes PPV-t azonosítottuk mindegyik vizsgált korcsoport savómintáiban, igen eltérő, 2% és 57% közötti gyakoriságokkal. Az egyes vírusok korcsoportonkénti eloszlása és a pozitív mintákhoz tartozó Ct-értékek eloszlása a 8. ábrán látható. A PPV2, PPV3, PPV5

és PPV6 vírusokat összességében nagyobb arányban azonosítottuk és mindegyik korcsoportban sikeresen találtunk fertőzött állatokat. Ezek közül is leggyakrabban a PPV2 fordult elő a vizsgált állományokban, amelyet kimagasló gyakorisággal detektáltunk a 10 (43%), a 14 (57%) és a 18 (43%) hetes állatok körében. A PPV3 és a PPV6 esetében a hízósertések mintáinak majdnem egynegyede pozitív volt mindkét vírusra. Igaz, eredményeink alapján a PPV-k viszonylag ritkán fordulnak elő a herélésifolyadék-mintákban, e két utóbbi vírus volt közülük a leggyakoribb ebben a mintatípusban (16% és 17%-os pozitivitás), amely a legfiatalabb, néhány napos korosztályú állatokat reprezentálja. Mindhárom említett PPV-t viszonylag alacsony Ct-értékekkel detektáltuk, főleg a fiatalabb korosztály, mint például a 2 és 4 hetes szopós malacok, illetve a választott malacok mintáiban.

A PPV1, PPV4 és PPV7 esetében alapvetően kisebb arányú előfordulást tapasztaltunk, és voltak olyan korcsoportok, ahol egyáltalán nem sikerült kimutatni ezeket a vírusokat. A legkisebb arányban a PPV8 volt megfigyelhető, amelyet a korcsoportonkénti savómintákból csak hat állomány esetében sikerült azonosítani. A többi PPV-hez viszonyítva ezeknél a vírusoknál összességében nagyobb Ct-értékeket mértünk, ami kisebb vírusterhelésre utal. Ugyanakkor azokban az állományokban, ahol nagyobb mértékű fertőzöttséget tapasztaltunk, alacsony Ct-értékeket is ki tudtunk mutatni, amelyek alkalmasak voltak a szekvenciameghatározási reakciókra.

Általánosságban elmondható, hogy a legnagyobb előfordulási gyakoriságokat a 14 és 18 hetes hízósertések valamint a 6, 8 és 10 hetes választott malacok mintáiban figyeltük meg. A PPV1 esetében a többi PPV-től eltérően inkább az idősebb korosztály, pontosabban a 18 hetes hízók és a tenyészkocasüldők mintáiban azonosítottuk a legtöbb pozitív mintát, ahol a vérsavópoolok 19%, illetve 20%-a volt pozitív. A Ct-értékek az esetek nagy részében viszonylag nagyok voltak, de a tenyészkocasüldők mintái között előfordultak a vírust nagyobb kópiaszámban tartalmazók is.



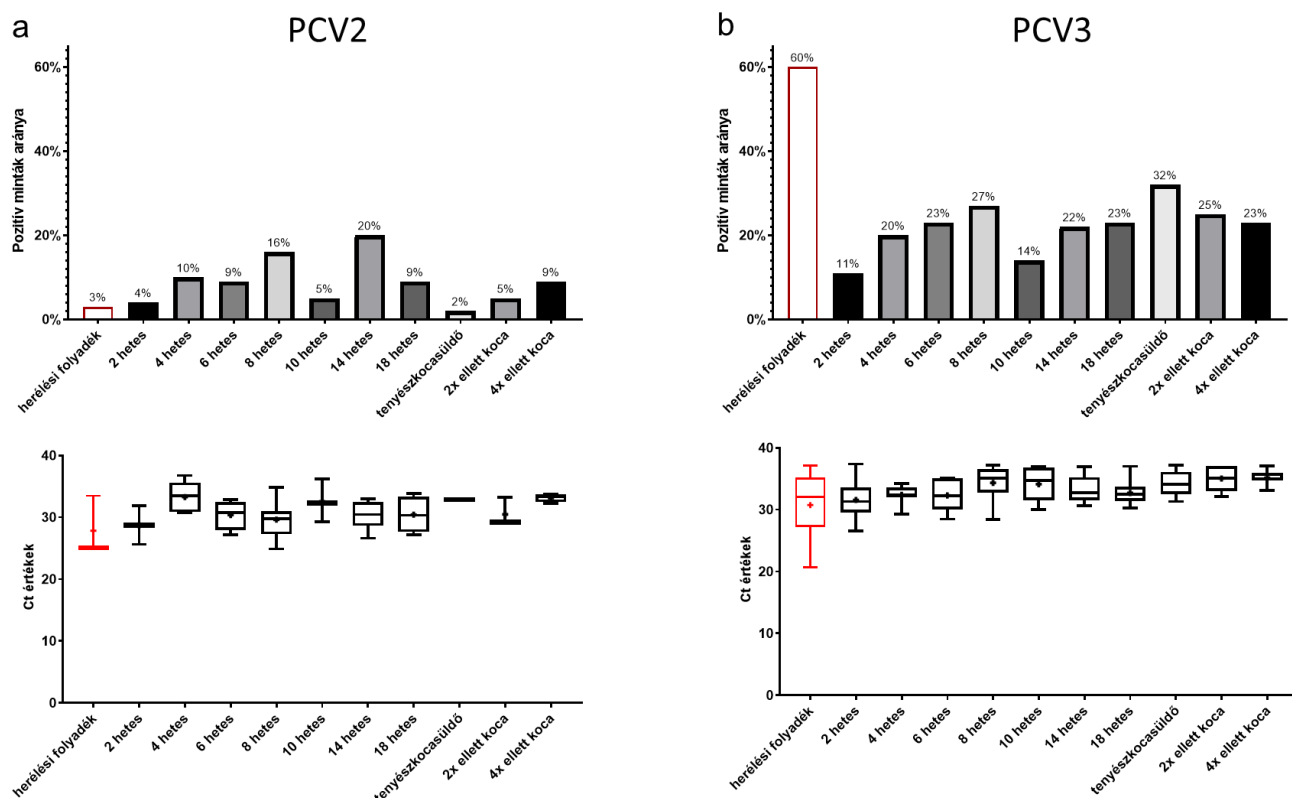
8. ábra. A PPV1–PPV8 prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző korcsoportokban.

Az egyes PPV-k kimutatási arányai a különböző korcsoportokba tartozó állatok vérsavómintáiban. A legfiatalabb korosztályt reprezentáló herélési-folyadék-minták pirossal jelölve láthatók. Minden oszlopdiagram alatt az adott vírushoz tartozó Ct-értékek eloszlását szemléltető boxplot diagramok találhatók, amelyeken a bajusz a minimum és maximum értékeket jelöli, a „+” jelek pedig az átlagot. A doboz vízszintes vonalai az első kvartilist, a mediánt és a harmadik kvartilist mutatják.

PCV-eket is sikeresen azonosítottunk minden vizsgált korcsoport mintáiban. A PPV-ktől eltérő mintázatot mutatott mindkét PCV korcsoportonkénti előfordulásának dinamikája, miszerint a fertőzött állatok száma 6–8 hetes korban tetőzik, 10 hetes korra lecsökken, majd később az idősebb korcsoportok felé újra emelkedik. A PCV2 esetében a legtöbb pozitív mintát a 8 hetes állatok és a 14 hetes állatok mintái esetében tapasztaltuk, míg a PCV3 esetében a 8 hetes állatok és a tenyészkocásüldők voltak a legnagyobb arányban fertőzöttek. A két vírus között jelentős eltérést tapasztaltunk a legfiatalabb korcsoportokhoz tartozó herélésifolyadék-mintáknál, mivel a PCV2 esetén csak a minták 3%-a, a PCV3 esetén pedig a 60%-a volt pozitív.

A Ct-értékek mindkét vírus esetében viszonylag nagyok voltak valamennyi korosztályban és enyhe növekvő tendenciát mutattak az idősebb korcsoportok irányába. A PCV3 vizsgálata során a nagyobb pozitív mintaszám miatt ez a trend a 9. ábra boxplot

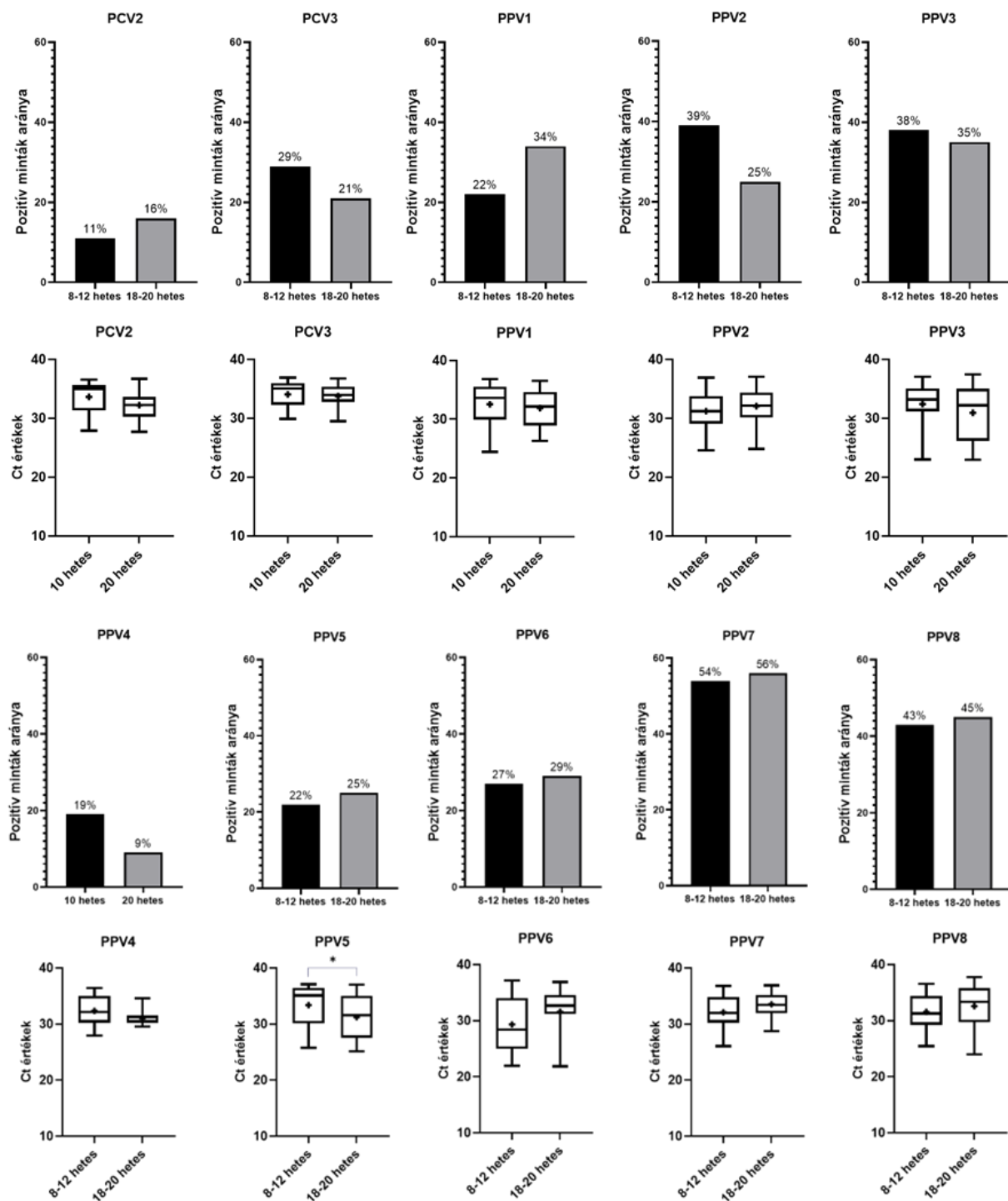
diagramján jobban kirajzolódik. Sőt, a PCV3 az egyetlen vírus, ahol még a savómintákhoz viszonyítva is jelentősen alacsonyabb Ct-értékekkel azonosítottunk herélési-folyadék-mintákat.



9. ábra. A PCV2 (a) és PCV3 (b) prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a különböző korcsoportokban.

A PCV2 és PCV3 kimutatási arányai a különböző korcsoportokba tartozó állatok vérsavómintáiban. A legfiatalabb korosztályt reprezentáló herélésifolyadék-minták pirossal jelölve láthatók. Minden oszlopdiagram alatt az adott vírushoz tartozó Ct-értékek eloszlását szemléltető boxplot diagramok találhatók, amelyeken a bajusz a minimum és maximum értékeket jelöli, a „+” jelek pedig az átlagot. A doboz vízszintes vonalai az első kvartilist, a mediánt és a harmadik kvartilist mutatják.

A rágókötélminták esetében az utónevelőben lévő 8–12 hetes állatokat és a 18–20 hetes hízosertéseket vizsgáltuk. A két korcsoport között egyik vizsgált vírus esetében sem találtunk szignifikáns eltérést a pozitív minták arányát tekintve (10. ábra). A Ct-értékek eloszlása a két korosztály mintái között sem mutatott jelentős különbséget. Egyedül a PPV5 esetében voltak a 18–20 hetes korcsoportú választott malacok pozitív mintáiban szignifikánsan kisebb Ct-értékek ($p = 0,0358$), mint a fiatalabb állatok mintáiban.



10. ábra. A vizsgált vírusok prevalenciája és a detektált Ct-értékek eloszlása a rágóköteleminták esetében.

A választott malacok (8–12 hetes) és hízósertések (18–20 hetes) PCV- és PPV-pozitív rágókötelemintáinak százalékos aránya. Alattuk az egyes vírusokhoz tartozó pozitív rágóköteleminták Ct-értékeit reprezentáló boxplotok. A bajusz a minimum és a maximum értékeket jelöli, a „+” jelek pedig az átlagot. A doboz vízszintes vonalai az első kvartilist, a mediánt és a harmadik kvartilist mutatják. A boxplotok feletti csillag a statisztikailag szignifikáns különbséget jelenti (*: $p < 0,05$).

7.6 A sertéstartó telepek termelési paramétereit és az egyes vírusok előfordulása közötti összefüggések

Az egyes vírusok esetében az állomány szintű fertőzés jelentőségének megállapításához, a vizsgált állományok termelési- és reprodukciós paramétereinek tükrében elemeztük a vírusok előfordulásának mértékét. Fisher-féle egzakt próbával vizsgálva statisztikailag szignifikáns összefüggést találtunk:

- A PPV1-fertőzés és a fialási százalék ($p = 0,0277$)
- A PPV5-fertőzés és a született malacok száma ($p = 0,0353$), és a vemhesülési százalék ($p = 0,0498$)
- A PPV8 -fertőzés és a született malacok száma ($p = 0,0379$), valamint a hízók ADG-je ($p = 0,015$) között.

Az említett összefüggések közül a logisztikus regressziós modell minden esetben szignifikáns összefüggést mutatott, kivéve a PPV8 és az almonként született malacok száma között.

A PPV1 jelenléte egy adott állományban szignifikáns összefüggést mutat az átlag alatti fialási százalék valószínűségével ($\beta = -2,197$, OR = 0,111, $p = 0,037$). Ez azt jelenti, hogy a PPV1-pozitív telepeken 88,9%-kal kisebb az átlag feletti fialási százalék elérésének valószínűsége azokhoz a telepekhez viszonyítva, ahol nem találtunk PPV1-pozitív állatot. A PPV5 vizsgálata során az almonként született malacok számával ($\beta = -2,120$, OR = 0,120, $p = 0,046$), és a vemhesülési százalékkal ($\beta = -2,773$, OR = 0,063, $p = 0,030$) is szignifikáns összefüggést találtunk, ami arra enged következtetni, hogy a PPV5-pozitív telepeken 88%-kal kisebb az átlag feletti születési számok, illetve 93,7%-kal kisebb az átlag feletti vemhesülési százalék elérésének valószínűsége. A PPV8 esetében a vírus előfordulása a hízóállatok ADG-jével mutatott szignifikáns összefüggést ($\beta = -2,773$, OR = 0,063, $p = 0,043$) ami azt mutatja, hogy a felmérésünkben résztvevő PPV8-negatív telepekhez viszonyítva, a PPV8-pozitív telepeken 93,7%-kal kisebb az átlag feletti ADG valószínűsége. Eredményeink alapján a PPV8-fertőzés a született malacok számára is hatással volt, de a logisztikus regressziós modell alapján az összefüggés nem tekinthető szignifikánsnak, mivel a p -érték, noha csak 7 ezrelékkal, de a meghatározott szignifikanciaszinten kívülre esett ($\beta = -2,398$, OR = 0,091, $p = 0,057$).

A négy legnagyobb vírusterheltségű és minden vizsgált vírusra pozitív állomány (Farm 8, 12, 19 és 23) esetében a termelési mutatók közül a született malacok száma mindenhol átlagon aluli volt, sőt a három legalacsonyabb értéket ezeken a telepeken jegyezték fel, pedig az állatok genetikája minden esetben eltérő volt. A reprodukciós paraméterek közül a

vemhesülési százalék három telepen átlag alatti volt, míg a negyedikről nincs információnk. A két legalacsonyabb vemhesülési százalékkal (85% és 86%) rendelkező telep is ide tartozott. Három állományban átlag alatti fialási százalékot rögzítettek, amelyek közé tartozott a legalacsonyabb fialási százalékkal (70%) rendelkező telep is. A hízalási paraméterek közül az ADG esetében találtunk kiugró értékeket: a két legalacsonyabb battériás ADG-t (366 g és 369 g) és a három legalacsonyabb hízlaldai ADG-t (693–790 g) is ezeken a telepeken jegyezték fel. A többi vizsgált termelési mutató esetében nem találtunk jelentős eltérést az átlagértékektől.

7.7 A hazai PCV- és PPV-törzsek genetikai változatossága

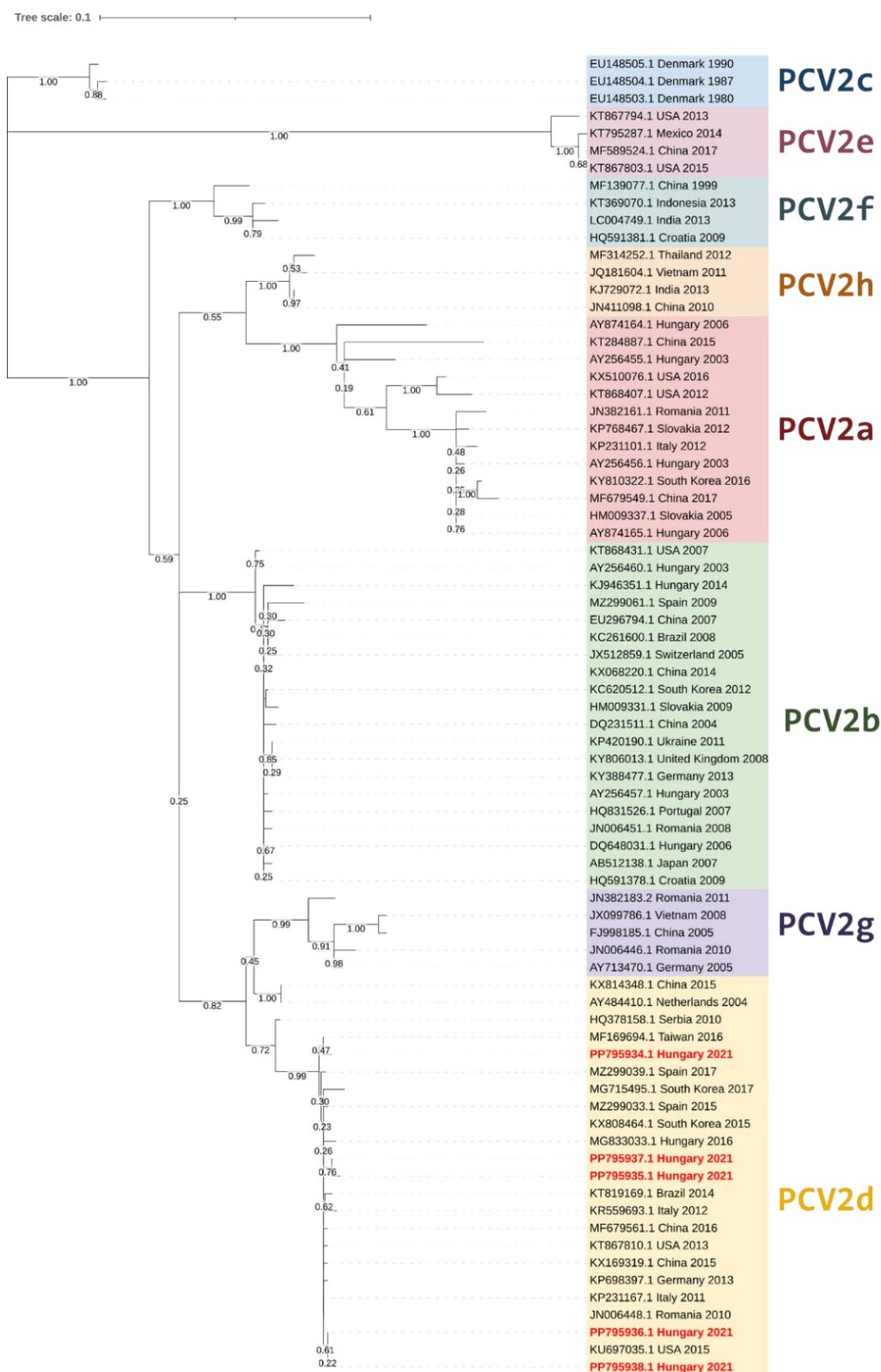
7.7.1 A sertéscircovírusok filogenetikai vizsgálata

A PCV2 esetében a kapszidfehérjét kódoló ORF2 gén szekvenciáját határoztuk meg az egyes telepekről begyűjtött erősen PCV2-pozitív savómintákból. Összesen öt esetben sikerült meghatározni a teljes ORF2 szekvenciát, amelyek mindegyike 705 bázispár hosszúságú és egymással 98,87–100%-os egyezést mutatnak. A PCV2 szekvenciák klasszifikációját 71 Genbank-ból letöltött, különböző eredetű referencia-szekvenciával összehasonlítva végeztük el. A filogenetikai fán nyolc jól elkülönülő genotípust azonosítottunk, amelyeket PCV2a-tól PCV2h-ig jelöltünk (Franzo & Segalés, 2018) (11. ábra). Mind az öt szekvencia a PCV2d genotípusba tartozott, 96,60% és 100% közötti nukleotidazonosságot mutatott a genotípusba tartozó referencia-szekvenciákkal. A szekvencia-elemzés alapján a hazai szekvenciák szoros rokonságban állnak egyes nemrégiben leírt amerikai (100% egyezés), olaszországi (99,86% egyezés) és dél-koreai törzsekkel (99,86% egyezés). Az összes PCV2 kapszidszekvenciát figyelembe véve a hazai törzsek a referencia génszekvenciákkal 83,40–100% között nukleotid-azonosságot mutatnak.

A filogenetikai elemzéshez használt szekvenciák 233–236 aminosav hosszúságúak és aminosavsorrendjeinek összehasonlító elemzése során három különböző régiót azonosítottunk, (53–91, 121–136, 169–217) amelyek esetében viszonylag nagyfokú az aminosavak változékonysága (12. ábra). Ezekben a régiókban a következő PCV2d genotípusra jellemző mutációkat találtuk a hazai törzsek esetében: Y8F, F53I, I57V, R59K, A68N, S121T, T134N, S169G/R, V215I. Emellett az utolsó 234K aminosav jelenléte is jellemző erre a genotípusra, mivel ez a PCV2a, illetve PCV2b genotípusnál még nem volt jelen (L. Guo és mtsai, 2012). A hazai törzsek aminosavsorrendjét összehasonlítva 3 esetben találtunk eltéréseket: Y8F, S169G/R és M217L, amelyek közül a 169-es aminosav misszensz mutációja egy ellenanyag-felismeréshez szükséges STIDYFQPNKR oligopeptidben (169–180) található (Trible és mtsai, 2011). Mindegyik magyarországi PCV2-törzs esetében megtalálható két PCV2d genotípusra jellemző motívum: az SNPLTV (86–91) és a TGID (190/191/206/210),

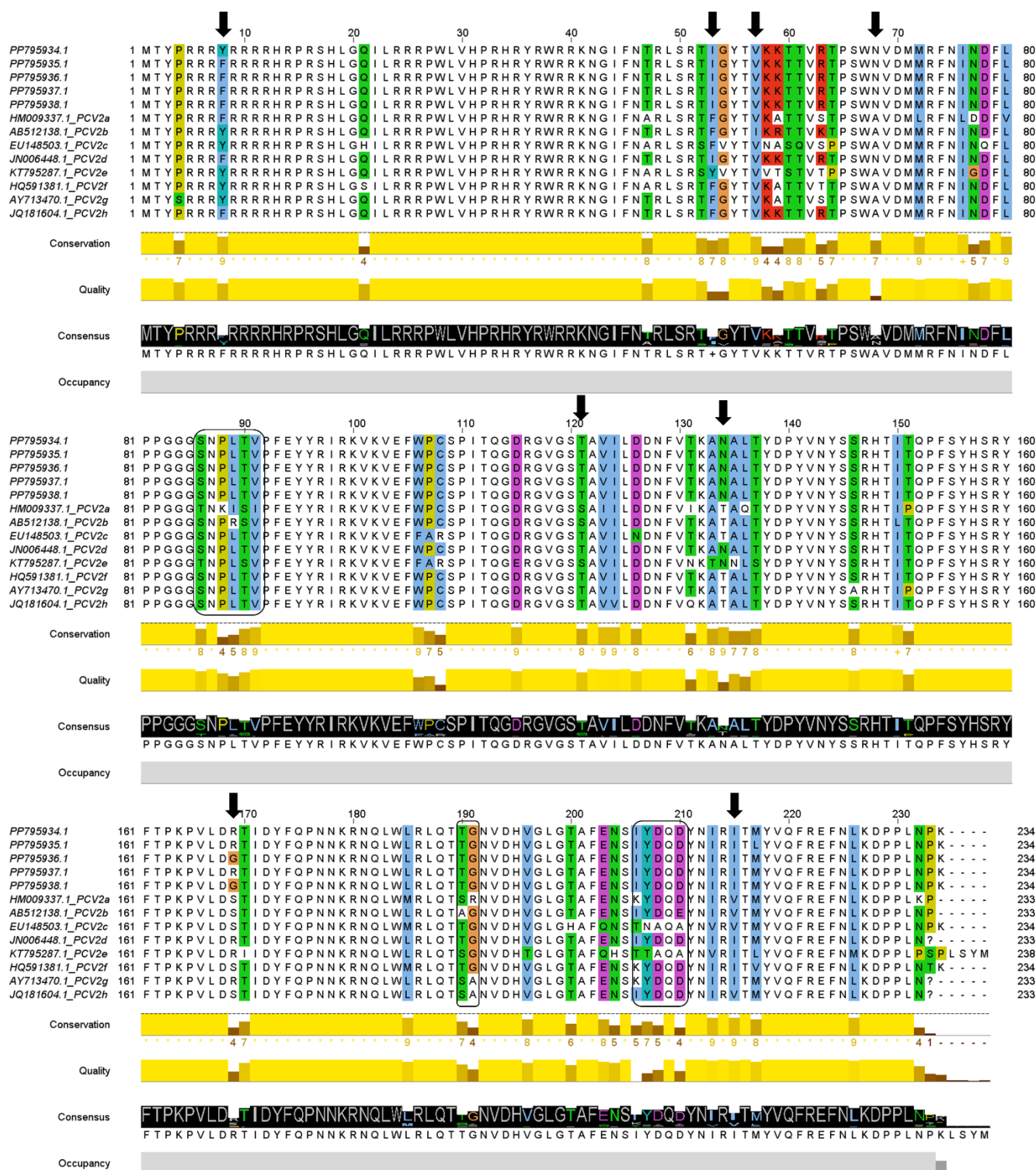
amelyek genetikai markerként is használhatóak az egyes genotípusok elkülönítésére (Xiao és mtsai, 2015).

Az említett mutációk közül az F53I, a S121T és a V215I a kapszidfehérje belső rétegét alkotó aminosavak közé tartozik (R. Wei és mtsai, 2019). A többi általunk is detektált, misszensz mutáció pedig a kapszid külső részén található. Ezek közül a hazai vírustörzsekre is jellemző PCV2d genotípus esetében a 59K, 190T és 191G aminosavak a neutralizáló epitóp részeként kritikusan fontosak (L. P. Huang és mtsai, 2011; Saha és mtsai, 2012), emellett a 77N és 206I az ellenanyag-felismeréshez nélkülözhetetlenek (Khayat és mtsai, 2011). Az itt bekövetkező változások a kapszid felületén konformációs változást eredményezhetnek, amelynek következtében az ellenanyagok nem lesznek képesek felismerni és neutralizálni a vírust.



11. ábra. A PCV2 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PCV2 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Hasegawa–Kishino–Yano-modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, válogatott PCV2a–PCV2h genotípusba tartozó törzseket illesztettük az átlátunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal kiemelve láthatók.



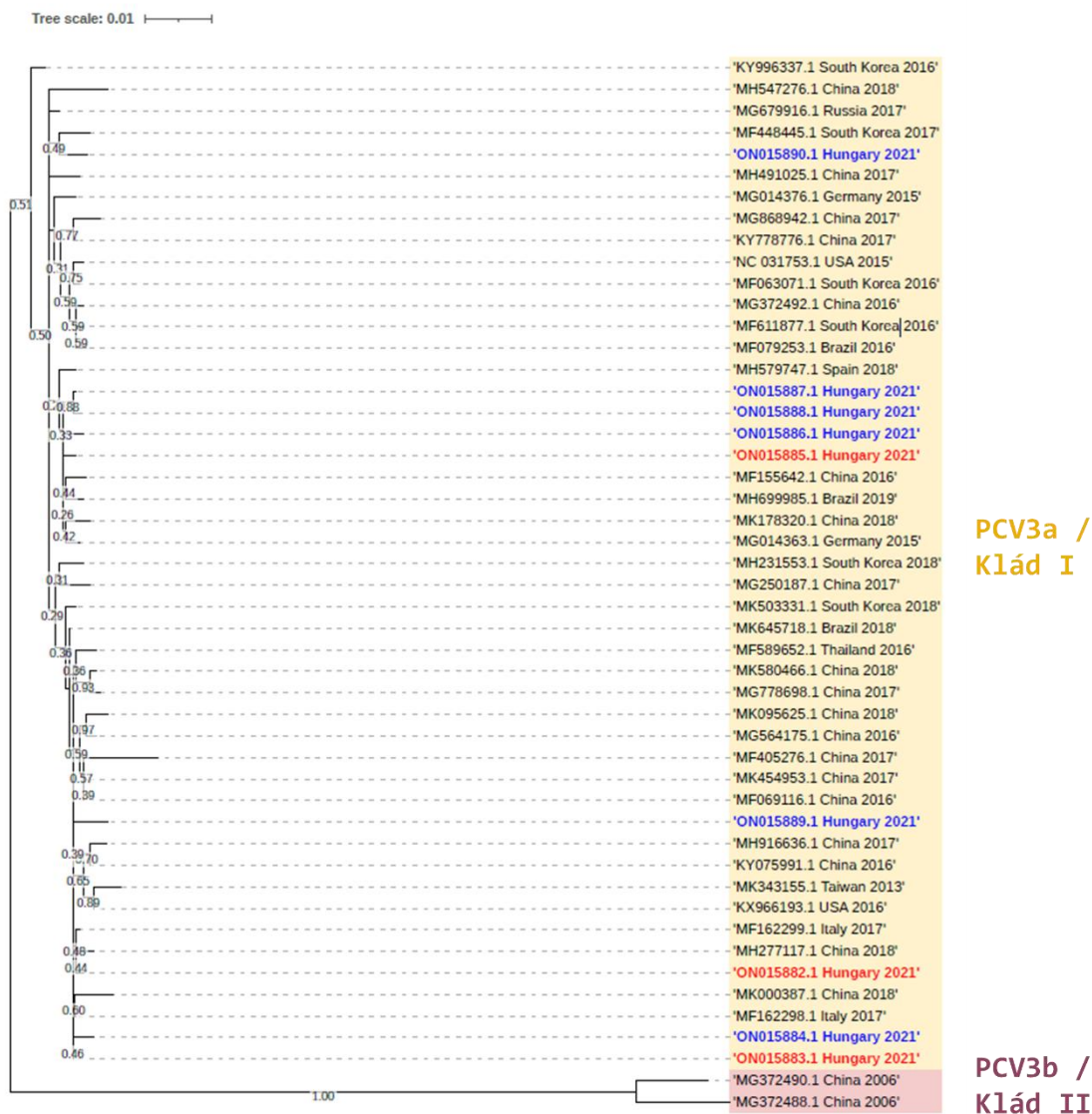
A PCV3 esetében teljes genom-meghatározást végeztünk nemcsak az egyes telepekről begyűjtött savómintákból, hanem PCV3-pozitív klinikai esetekből származó szövet-homogenizátumokból is. Összesen kilenc, 2000 bázispár hosszúságú teljesgenom-szekvenciát sikerült meghatározni. Az összehasonlító szekvenciaelemzés 98,8–99,85%-os egyezést mutatott a hazai törzsek között. A szekvenciák klasszifikációját 41 GenBank-ból letöltött, különböző eredetű referencia-szekvenciával összehasonlítva végeztük el. A Franzo és munkatársai által leírt besorolási módszer két genotípust különböztet meg, amelyek a mi filogenetikai fánkon is elkülönülnek (13. ábra). Mind a 9 szekvenciánk az első kládba tartozik, amely a PCV3a genotípusnak felel meg. Az eddig leírt szekvenciákkal 89,95% és 99,95% közötti nukleotid-azonosságot, a kládon belüli szekvenciákkal pedig 98,22–99,95% közötti homológiát mutatnak. Attól függetlenül, hogy mindegyik hazai szekvencia egy genotípusba tartozik, az elhelyezkedésük a filogenetikai fán nem tükrözi a földrajzi elhelyezkedését az egyes telepeknek. A szekvencia-elemzés alapján a hazai szekvenciák szoros rokonságban állnak egyes olaszországi, kínai és dél-koreai törzsekkel.

A ORF1 szakasz (216–1107 nukleotidok között) egy 296 hosszú nem-strukturális fehérjét, az ORF2 (1336–1980 nukleotidok között) pedig egy 214 aminosav hosszúságú strukturális fehérjét kódolt mindegyik hazai PCV3-törzs esetében. A replikáz- és kapszidfehérjék aminosavsorrendjének összehasonlító elemzése 94 különböző eredetű referencia-szekvenciával nagyon kismértékű diverzitást mutatott a különböző eredetű vírustörzsek között. A hazai vírustörzsek aminosavsorrendje az ORF1 esetében 99,32–100%-ban, míg az ORF2 esetében 98,13–100%-ban egyezett meg. Ezek az értékek a PCV3a genotípuson belül 97,97–100% és 96,26–100%, míg az összes szekvenciát vizsgálva 93,24–100% és 90,19–100%.

A kapszidfehérjét kódoló ORF2 génben a nagymértékű homológia ellenére is sikerült azonosítani néhány jellemző aminosav-mutációt. Négy-négy törzsnél az A24V, R27K, F104Y és további egy-egy esetben a N56S és S156T mutációk fordultak elő a hazai törzseknél (14. ábra). Az ORF1 esetében összesen 3 pozícióban találtunk eltérő aminosavakat: P19L, A122S és W256C. Ezek közül egyedül a 122-es aminosav volt, amelyik mindkét PCV3b genotípusú szekvenciánál előfordult és a PCV3a genotípusú szekvenciák 46%-ában is jelen volt.

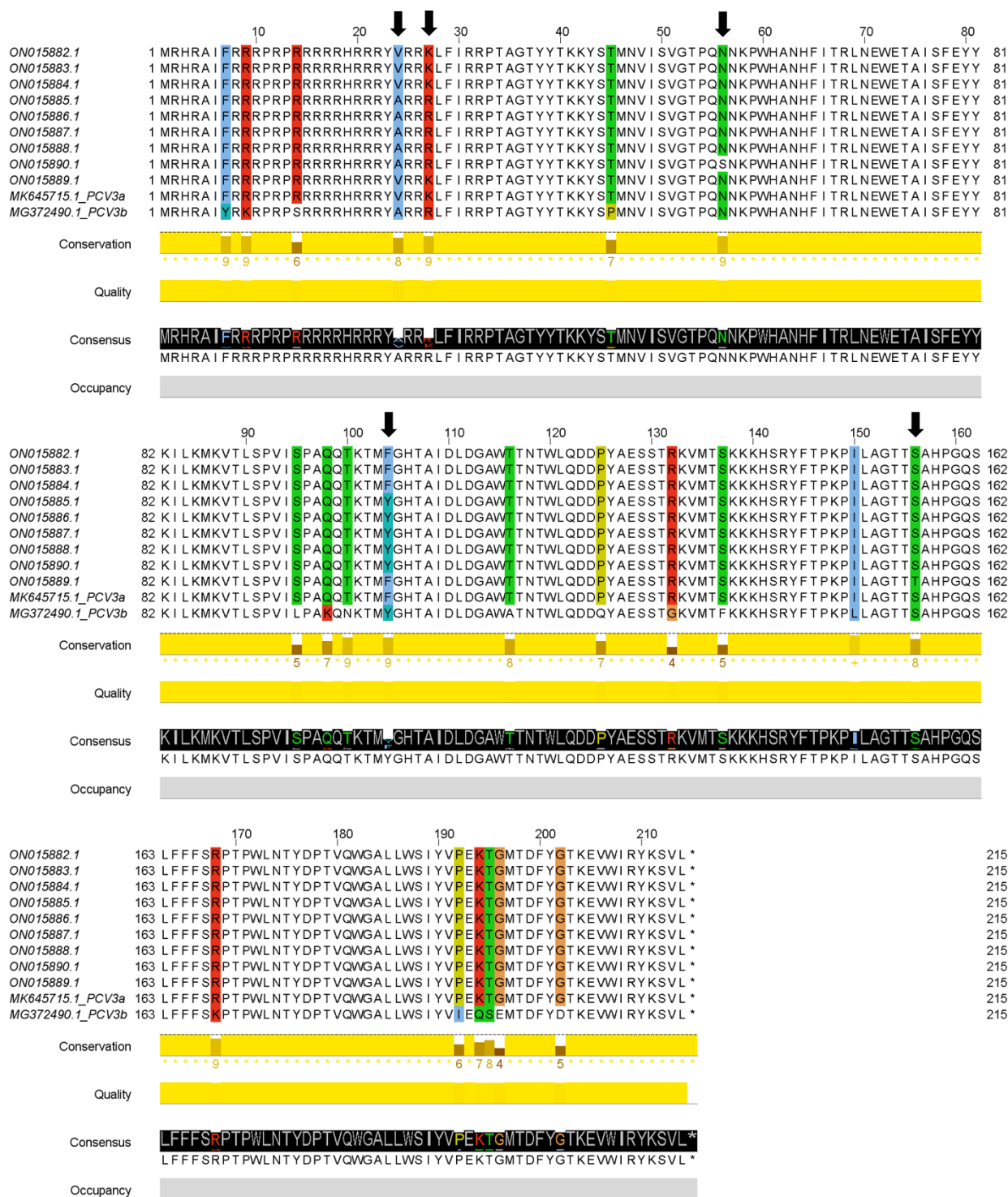
Azt fontos megjegyezni, hogy a nagyfokú egyezés miatt a bootstrap-értékek a PCV3a genotípuson belül viszonylag kicsik, viszont mind a teljes genom, mind az ORF2 alapján készített filogenetikai fán (5. melléklet) az egyes aminosav-mutációkat tartalmazó törzsek együtt csoportosulnak. A leggyakoribb A24V és R27K mutációkat tartalmazó hazai PCV3-törzsek (ON015882–84) is egy csoporton belül találhatóak, amelyek közül egyetlen szekvencia helyezkedett el távolabb, amelyik az S156T aminosav-mutációt is tartalmazta (ON015889). A

többi szekvencia közül négy (ON015885–87) szintén együtt csoportosult egy másik klaszteren belül, míg az N56S mutációval rendelkező törzs (ON015890) a fákon elkülönülve: az ORF2 alapján egy 2017-ben Oroszországban gyűjtött szekvenciával, a teljes genom alapján pedig az oroszországi szekvencia mellett egy 2017-es dél-koreai szekvenciával mutat közeli filogenetikai rokonságot.



13. ábra. A PCV3 teljes genomszekvenciák filogenetikai elemzése.

A PCV3 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Tamura–Nei-modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, válogatott PCV3-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz. A tünetmentes állományokban gyűjtött savómintákból származó szekvenciák pirossal, a klinikai esetekből meghatározott szekvenciák kékkel kiemelve láthatók.



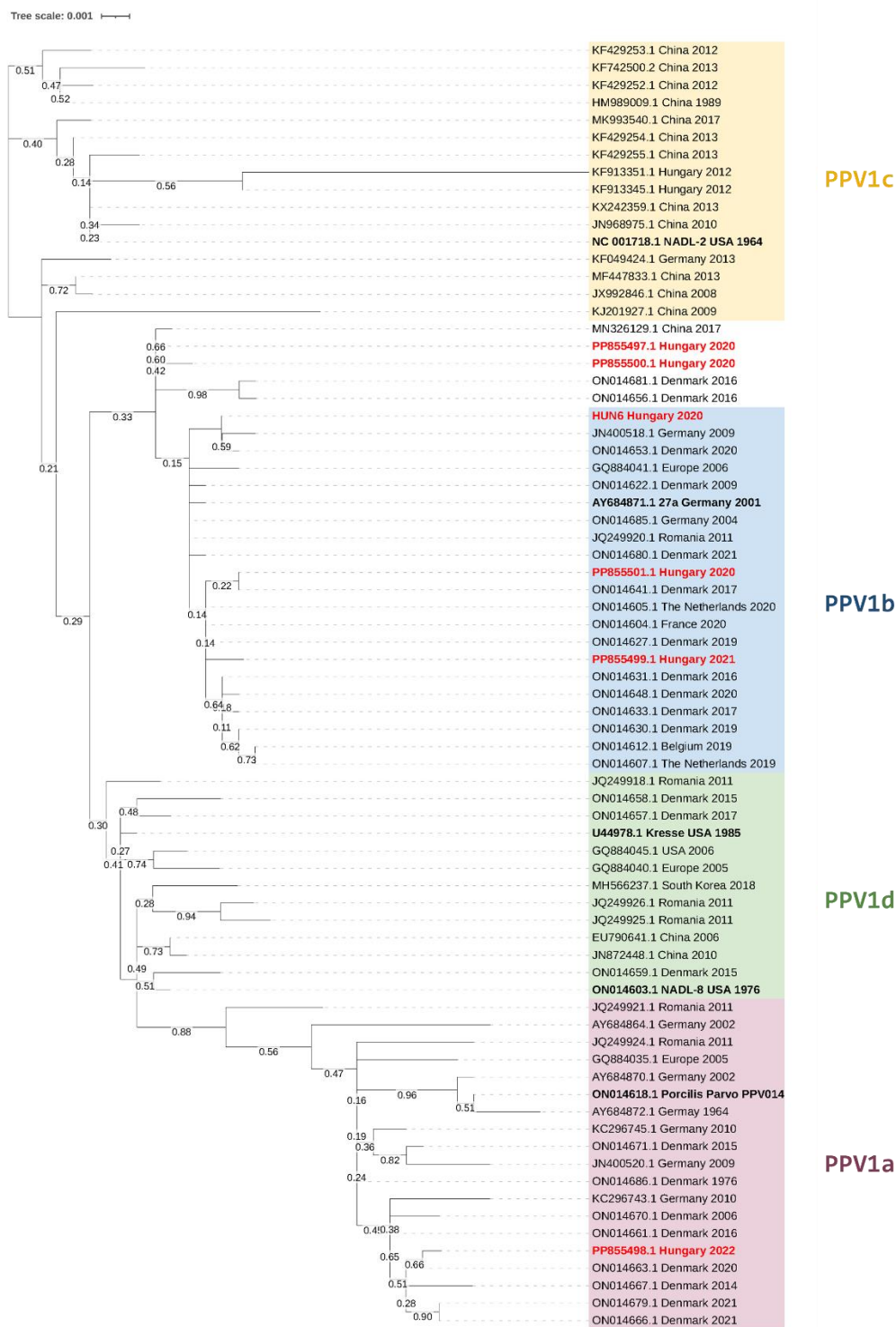
14. ábra. A magyarországi PCV3-törzsek ORF2 aminosav-szekvenciáinak illesztése a PCV3a és PCV3b genotípusú törzsek referencia-szekvenciáihoz.

Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

7.7.2 A sertésparvovírusok filogenetikai vizsgálata

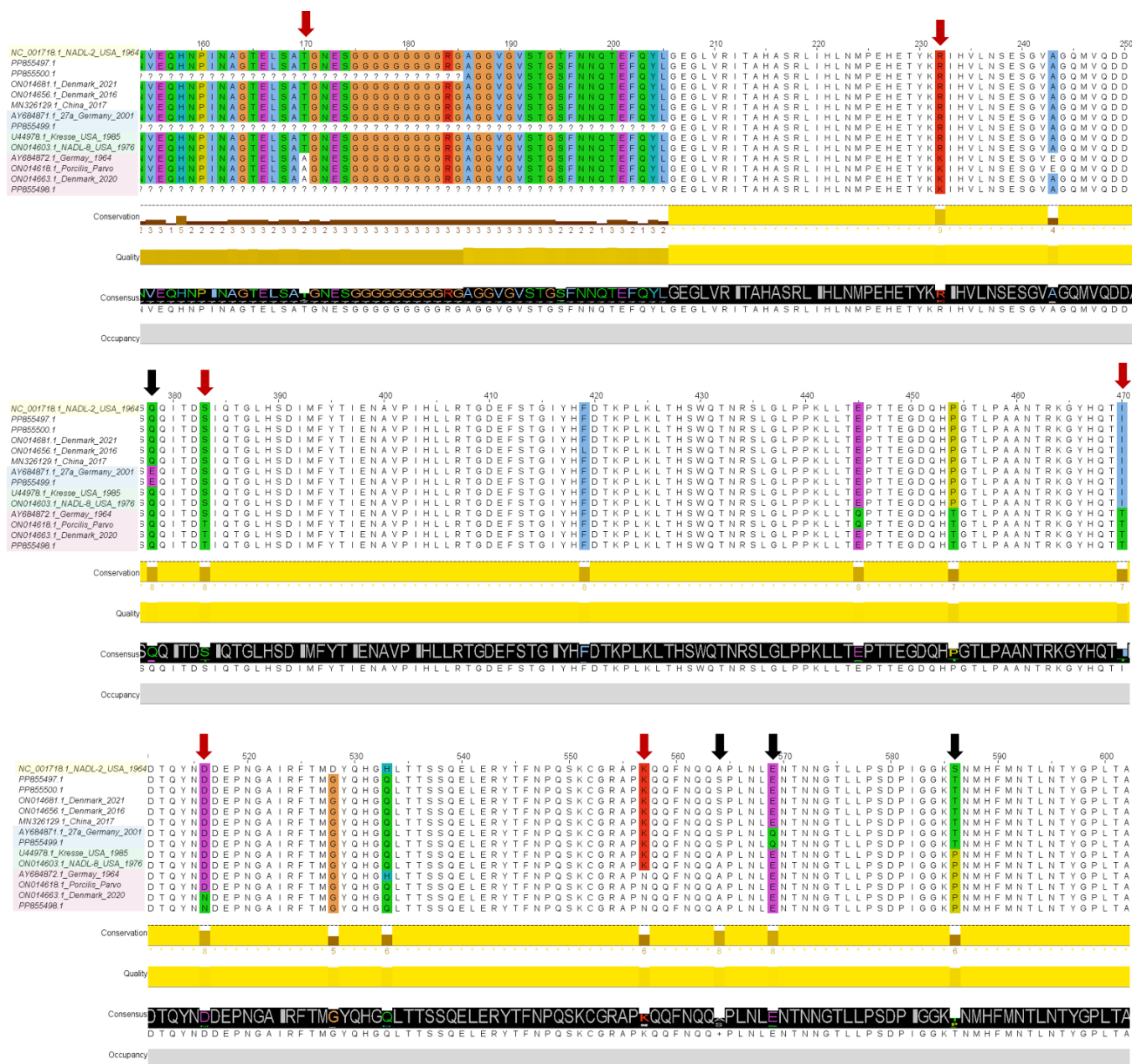
A PPV1 esetében egy teljes és öt részleges kapszidfehérjét kódoló gén (ORF2) szekvenciáját sikerült meghatározni 18 hetes állatok, illetve tenyészkocasüldők vérsavómintáiból. A magyarországi törzsek nukleotidsorrendje egymással 97,46–100%-ban egyezett meg. A szekvenciák klasszifikációját 68, Génbank-ból letöltött, különböző eredetű referencia-szekvenciával összehasonlítva végeztük el. A Vereecke és munkatársai által 2022-ben leírt besorolási módszer négy genotípust különböztet meg (Vereecke és mtsai, 2022), amelyeket PPV1a-tól PPPV1d-ig jelölnek (15. ábra). Három magyarországi szekvencia a PPV1b genotípusba tartozott, amelynek tagjai az igen virulens 27a-szerű vírusok, míg egyetlen hazai vírustörzs a PPV1a genotípusba volt besorolható. Kettő, azonos telepről származó szekvenciát az alkalmazott klasszifikációs kritériumokkal nem lehetett besorolni, mivel aminosavsorrendjük alapján átmenetet mutattak a PPV1b és PPV1c genotípusok között. A hazai törzsek homológianálízise azt mutatta, hogy 96,48% és 100% közötti nukleotid-azonossággal rendelkeznek a magyarországi szekvenciák az elemzéshez használt, különböző eredetű referencia-szekvenciákkal. A szekvencia-elemzés alapján a hazai törzsek szoros rokonságban állnak az európaiakkal, főleg németországi, dániai és romániai szekvenciákkal mutattak nagyfokú egyezést.

A filogenetikai elemzéshez használt PPV1-törzsek aminosavsorrendjének összehasonlító elemzése alapján a hazai szekvenciák között 97,98–100% egyezés volt, míg a többi szekvenciával 96,05–100%-ban egyeztek meg. A hazai törzsek közül a PP855499 mind a négy PPV1b genotípusra jellemző aminosav-mutációt tartalmazta: Q378E, A564S, E569Q, P586T (16. ábra). Ebbe a genotípusba sorolandó még a HUN6 jelölésű részleges szekvencia, amely a Q378E aminosav-mutációval rendelkezik. A másik két PPV1b genotípusba tartozó hazai szekvencia (PP855499 és PP855501) a PPV1b-re jellemző mutációk közül csak kettőt tartalmazott: A564S, P586T. Az egyetlen teljes VP1 génszekvencia (PP855497) aminosavsorrendje teljesen megegyezik egy 2021-ben detektált dániai szekvenciával (ON014681), amelynek besorolása nem lehetséges az alkalmazott kritériumokkal. Az általunk használt klasszifikációs eljárással ezek a szekvenciák nagymértékben hasonlítanak a PPV1b genotípusba tartozó szekvenciákhoz, de átmenetet képeznek a PPV1b és PPV1c genotípusok között. A PP855498 szekvenciánk pedig a PPV1a genotípusba tartozott, és a genotípusra jellemző T170A, R232K, S383T, I470T, D516N és K557N aminosav-mutációk voltak megfigyelhetők benne.



15. ábra. A PPV1 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV1 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Hasegawa–Kishino–Yano-modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, válogatott PPV1a–PPV1d genotípusba tartozó törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz. Az egyes genotípusokba tartozó referencia vírustörzsek feketével, az általunk meghatározott magyarországi szekvenciák pirossal kiemelve láthatók.



16. ábra. A magyarországi PPV1-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

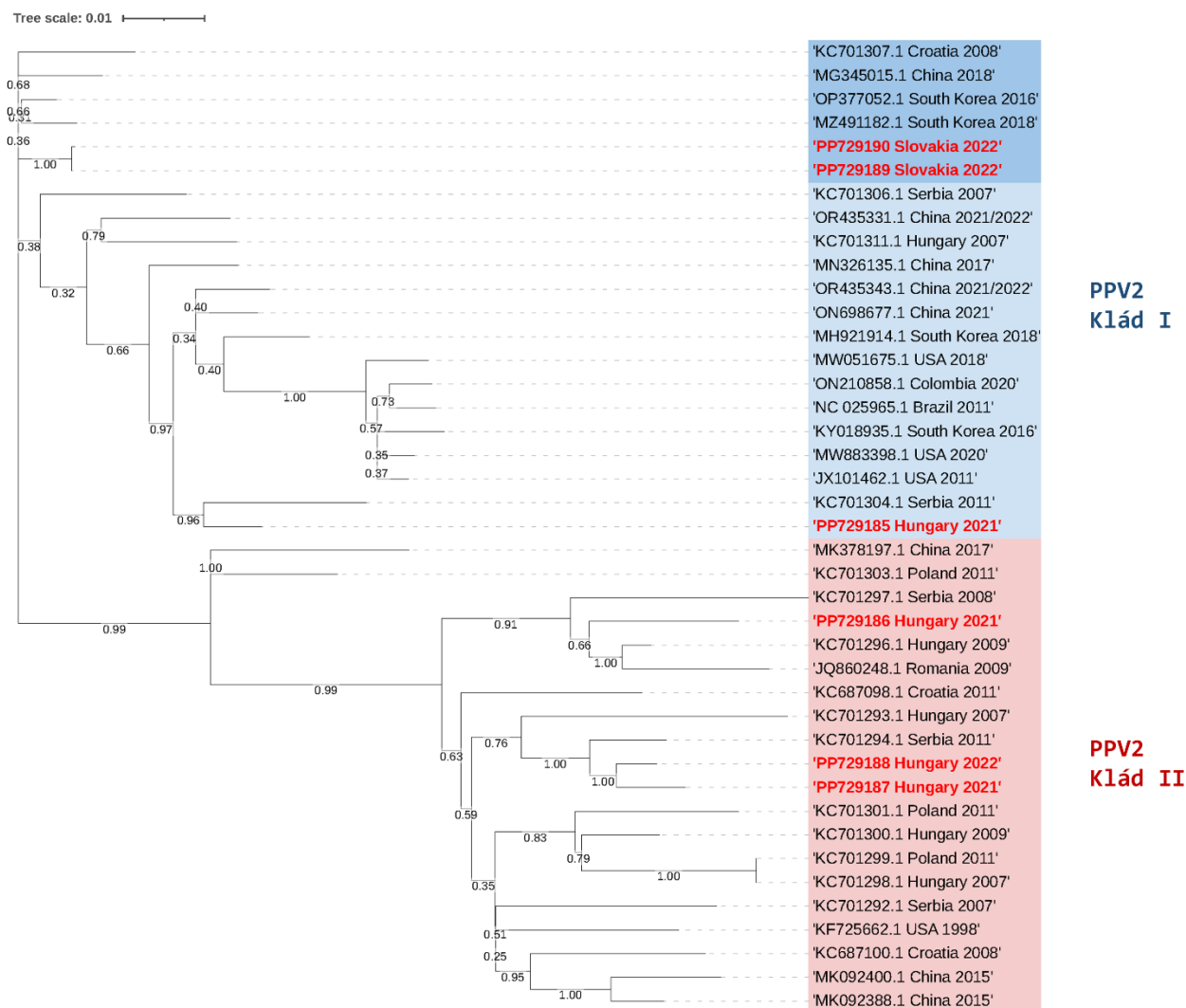
A hazai törzseket a PPV1a–PPV1d genotípusú törzsek referenciaszekvenciáihoz illesztettük. A különböző genotípusba tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fizikokémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A PPV1a genotípusra jellemző mutációkat piros nyíl, míg a PPV1b-re jellemzőeket fekete nyíl jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

Az újonnan azonosított PPV-k közül a PPV2, PPV3, PPV4 és PPV8 esetében a kapszidfehérjét kódoló (ORF2/VP) gént, a PPV5, PPV6 és PPV7 esetében pedig a nem-

strukturális fehérjét (ORF1/NS1) kódoló gén szekvenciáját határoztuk meg filogenetikai elemzés céljából.

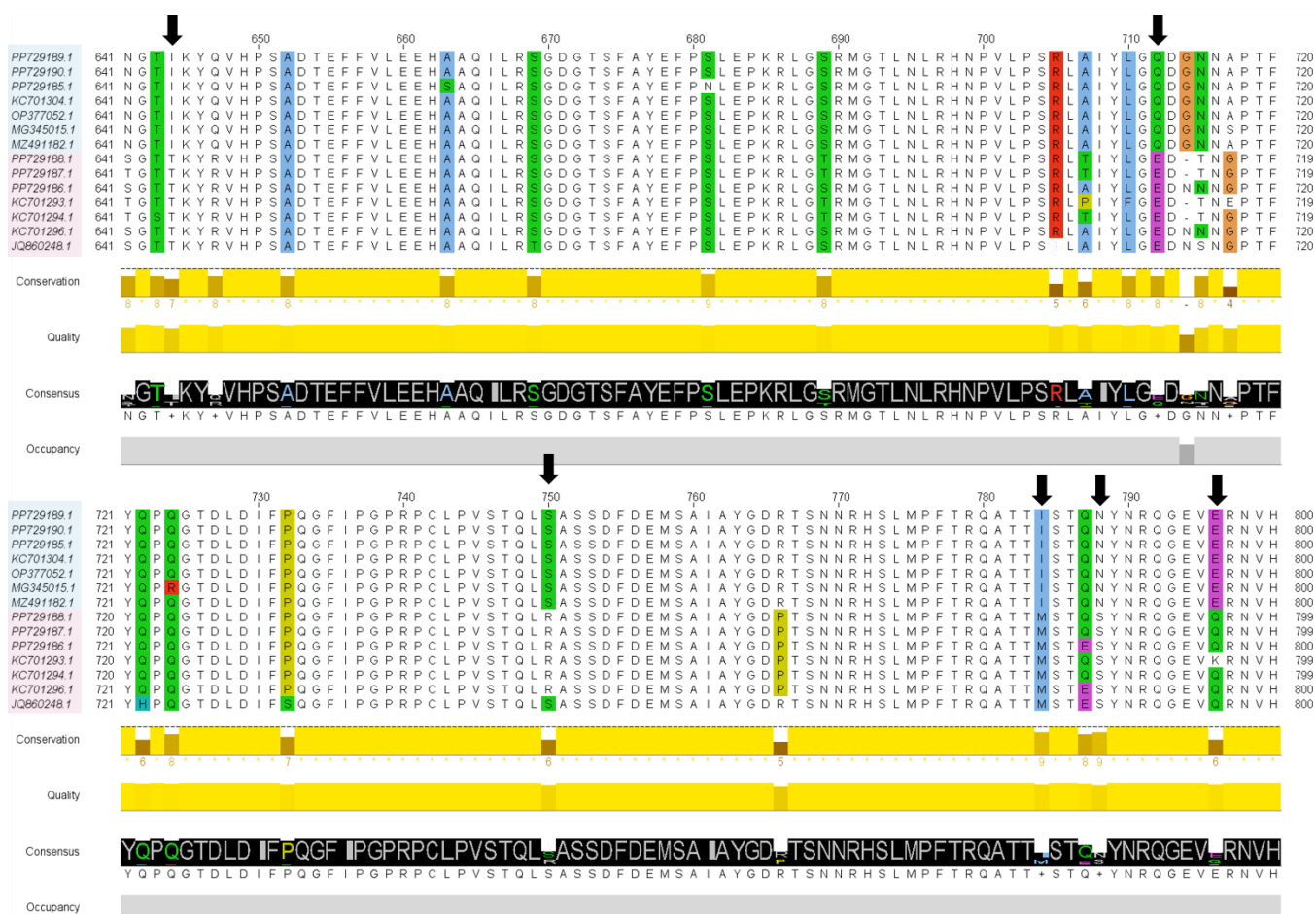
A PPV2 esetében négy különböző telepről származó vérsavómintából négy kapszidszekvenciát sikerült megállapítani. Emellett, két szlovákiai szekvenciát is meghatároztunk a vizsgált felvidéki telepekről begyűjtött mintákból. Mindegyik szekvencia majdnem teljesen lefedi a kapszidfehérje génjét. Egy rövid 24–31 bázispár hosszúságú szakasz hiányzik a szekvenciák végéről, amelyeket a szekvenáló PCR-reakciók során nem sikerült amplifikálni. A VP1 kapszidgén variábilis régióit, amelyek feltétlenül szükségesek a megfelelő filogenetikai elemzések kivitelezéséhez, minden szekvencia tartalmazta. A Maximum Likelihood filogenetikai fán a saját szekvenciáink és 35 GenBank-ból letöltött referencia-szekvenciák két kládra oszlottak (17. ábra), ezek között a nukleotid-azonosság 92,72% és 98,44% közötti volt. Az egyes kládon belüli szekvenciák 95,48–99,97%-os, a kettes kládba tartozók pedig 93,55–100%-os egyezést mutattak. A magyarországi szekvenciák közül három a kettes kládba tartozott, az európai szekvenciák nagy részével együtt. Egy hazai és a két felvidéki szekvencia pedig az egyes kládba került, amelynek tagjai jóval diverzebb földrajzi eredetű szekvenciák. Ide sorolandóak többek között amerikai, brazil, dél-koreai és kínai szekvenciák is. A magyarországi szekvenciák összehasonlító szekvencia-analízise 93,49–98,81% hasonlóságot mutatott a kapszid génen és 93,52–96,89% hasonlóságot a hazai és felvidéki szekvenciák összehasonlítása során.

Az kapszidfehérjét 1031–1032 aminosav alkotja, amelyek 95,28–100%-ban egyeztek meg egymással, illetve 93,51–99,51%-ban a többi PPV2 kapszidszekvenciával. Az aminosav-szekvenciák összehasonlító elemzése során három nagyobb méretű variábilis régiót azonosítottunk (203–269, 707–717, 784–796), illetve tizenegy pozíciót (Q457E, S563T, L592M, E598D, N641S/T, I644T, Q647R, S750R, R766P, K864H, T1010S) ahol a hazai szekvenciák esetében összesen 27 aminosav-mutációt detektáltunk (18. ábra). A klád I-be tartozó szekvenciákat összehasonlítva a klád II-be tartozókkal az első régió belül a következő aminosavcserét eredményező jellegzetes mutációkat találtuk: P203S, E205A, A209P, I211S, N/D213H/D, S216P, A217K, A218S, R221Q, S222P, R223Q, E253G, P258S, T259P és A269P. A második variábilis régióban található misszensz mutációk: A707T, Q712E, N715T és A717G. Továbbá két szekvenciánál a 714-es aminosav delécióját, egy esetben pedig a G714N mutációt azonosítottuk. A harmadik régióban azonosított mutációk: I784M, N788S és E796Q. A 18. ábrán látható aminosavszekvencia-illesztés bemutatja a főbb variábilis régiókat, kiemelve az ott található aminosav-mutációkat. Összehasonlítva a két filogenetikai csoportot, az első kládba tartozó aminosav-szekvenciák között 93,8–100% közötti, míg a második kládba tartozók között 91,95–100% közötti az azonosság.



17. ábra. A PPV2 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV2 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Tamura 3-paraméter modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, válogatott PPV2-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi, illetve szlovákiai szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



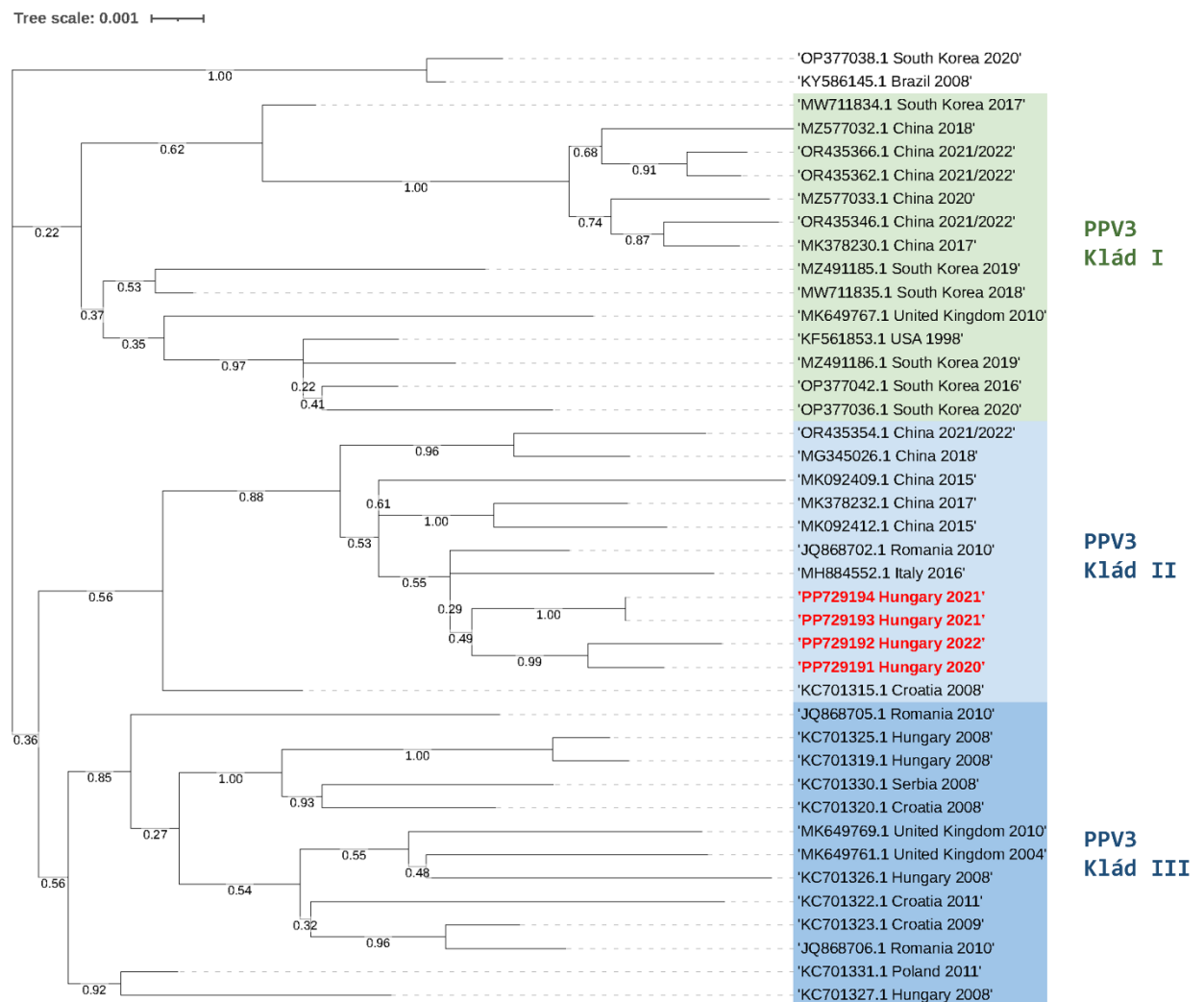
18. ábra. A magyarországi PPV2-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

A hazai törzseket a filogenetikai elemzés során meghatározott, két elkülönülő kládba tartozó törzsek egyes szekvenciáihoz illesztettük. A különböző klaszterbe tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

A PPV3 esetében 4 teljes kapszidgén-szekvenciát sikerült meghatározni, amelyeket 37, különböző eredetű referencia-szekvenciához illesztettünk. A vizsgált saját és egyéb referencia-szekvenciák között a nukleotid-azonosság 97,88%–99,46% közötti volt és a filogenetikai fán három kládba csoportosultak (19. ábra). Az egyes kládot elsősorban kínai és dél-koreai szekvenciák alkották, míg a hármas kládba a korábban detektált magyarországi szekvenciákkal együtt kizárólag európai szekvenciák tartoztak. Az általunk meghatározott hazai szekvenciák közös klaszterbe rendeződtek a kettes kládon belül, amely vegyes földrajzi eredetű szekvenciákat tartalmazott. Fontos megjegyezni, hogy a szekvenciák csoportosulása alapján a kettes és hármas klád közös filogenetikai csoportot alkot, azonban az alacsony bootstrap-értéket figyelembe véve a két genetikailag erősebben összetartozó csoportot két

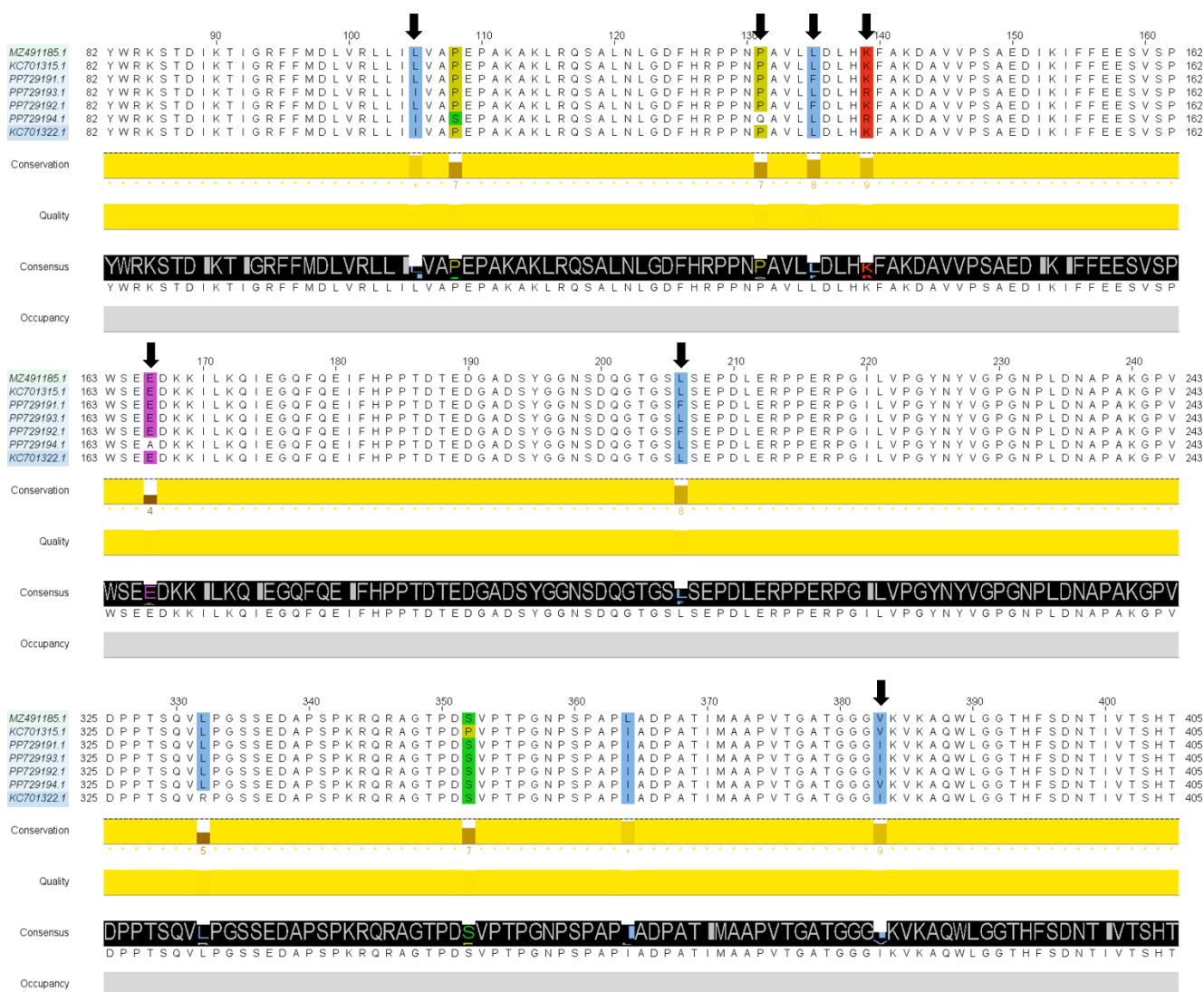
külön kládnak határoztuk meg. A magyarországi szekvenciák összehasonlító elemzése 99,24–100% közötti egyezést mutatott, a kettes kládon belüli szekvenciák pedig 98,52–100% közötti egyezést mutattak. A klád I-ben található szekvenciák nukleotid-sorrendje 97,95–99,78%-ban, a klád III-ban találhatók pedig 97,8–99,75%-ban egyeztek meg egymással.

Az kapszidfehérje aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése 98,74–100% közötti egyezést mutatott a 925 aminosav hosszúságú hazai szekvenciák között, míg 95,52–98,62%-ot az összes szekvenciát nézve. A kládokon belül a klád I-ben 95,75–99,66%, a klád II-ben 97,13–100%, míg a klád III-ban 95,38–99,54%-os egyezést találtunk a besorolt szekvenciák között. A PPV3 esetében eddig leírt mutációk közül, elemzésünk alapján a hármas kládra specifikusan jellemzőek a L332R és a V740G mutációk (Cadar, Lőrincz, és mtsai, 2013). Továbbá a saját mintáink között az I383V és L105I aminosav-mutációkat detektáltuk (20. ábra). Ezek közül a 383-as mutáció főleg az egyes, javarészt ázsiai szekvenciákat tartalmazó kládra jellemző, de előfordul a mi egyik mintánkban és más európaiakban is. A 105-ös mutáció pedig inkább az európai mintákra jellemző és a hármas kládba tartozó mintákban fordul elő többségben, de két hazai mintában is detektáltuk. Az szekvenciák összehasonlító elemzése során kimutattuk további, igen ritkán vagy csak a saját mintáinkban egyedileg előforduló mutációk (P131Q, L135F, K139R, E166A és L206F) jelenlétét.



19. ábra. A PPV3 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV3 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Kimura 2-paraméter modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű, válogatott PPV3-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



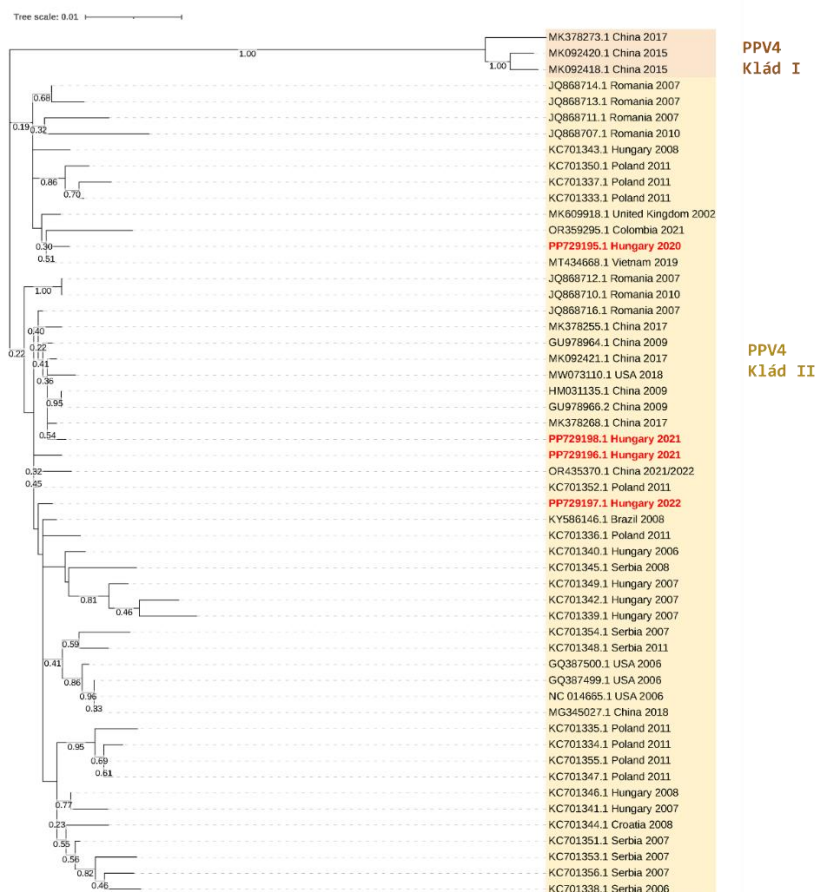
20. ábra. A magyarországi PPV3-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

A hazai törzseket a filogenetikai elemzés során meghatározott, három elkülönülő kládba tartozó törzsek egyes szekvenciáihoz illesztettük. A különböző klásterbe tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

Összesen négy esetben határoztuk meg a PPV4 kapszidfehérjéjének a szekvenciáját, amelyeket 50 különböző eredetű szekvenciával illesztve és összehasonlítva elkészített filogenetikai fa két kládra oszlott (21. ábra). A mintáink az eddig leírt szekvenciákkal 95,01 és 99,77% közötti nukleotid-azonosságot mutattak. Mindegyik magyarországi szekvencia a második kládba tömörült az elemzéshez használt szekvenciák nagy részével, míg az első klád összesen három elkülönülő kínai eredetű szekvenciát tartalmazott. Az általunk meghatározott hazai szekvenciák nukleotidsorrendje 99,03–99,54%-os egyezést mutatott egymással. Az

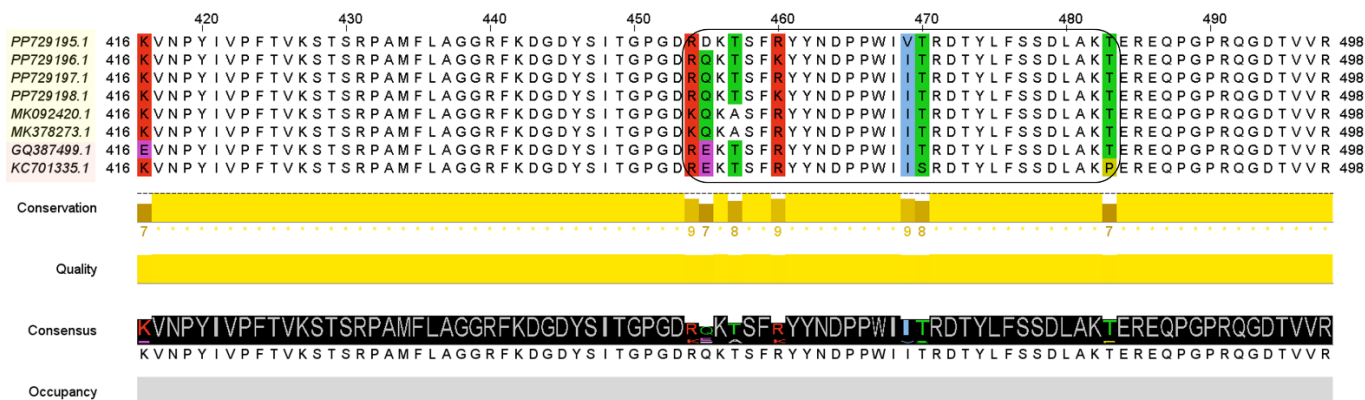
egyes kládba tartozó szekvenciák 97,82–100% közötti, míg a kettes kládba tartozók 95,16–99,49% közötti nukleotid-azonosságot mutatnak. Ilyen nagymértékű hasonlóság esetén nehéz elkülöníteni a filogenetikai csoportokat, az egyes kládba tartozó szekvenciák elhelyezkedése a fán nem tükrözi se a szekvenciák földrajzi eredetét, se a mintagyűjtés időpontját.

Az PPV4 kapszidfehérje-szekvenciák 728 aminosav hosszúságúak és igen nagy, 98% feletti egyezést mutatnak aminosavsorrendjükben. A négy általunk meghatározott szekvencia 99,45–99,86%-ban egyezik meg, míg az első klád szekvenciái 98,63–99,45%-ban, második klád szekvenciái pedig 96,98–100%-ban. A nagyfokú egyezés ellenére egy régiót azonosítottunk a 454–483 pozícióban, ahol viszonylag diverznek mutatkozik az aminosavak sorrendje (22. ábra). A saját szekvenciáink között itt E455D/Q, R460K és I469V mutációkat azonosítottunk. Az első kládra nézve pedig a következő jellemző aminosavmutációkat azonosítottuk: T145S, N370T, I568V és K/Q/A a 454/455/457 pozícióban.



21. ábra. A PPV4 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV4 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Hasegawa–Kishino–Yanomodel alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű, válogatott PPV4-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



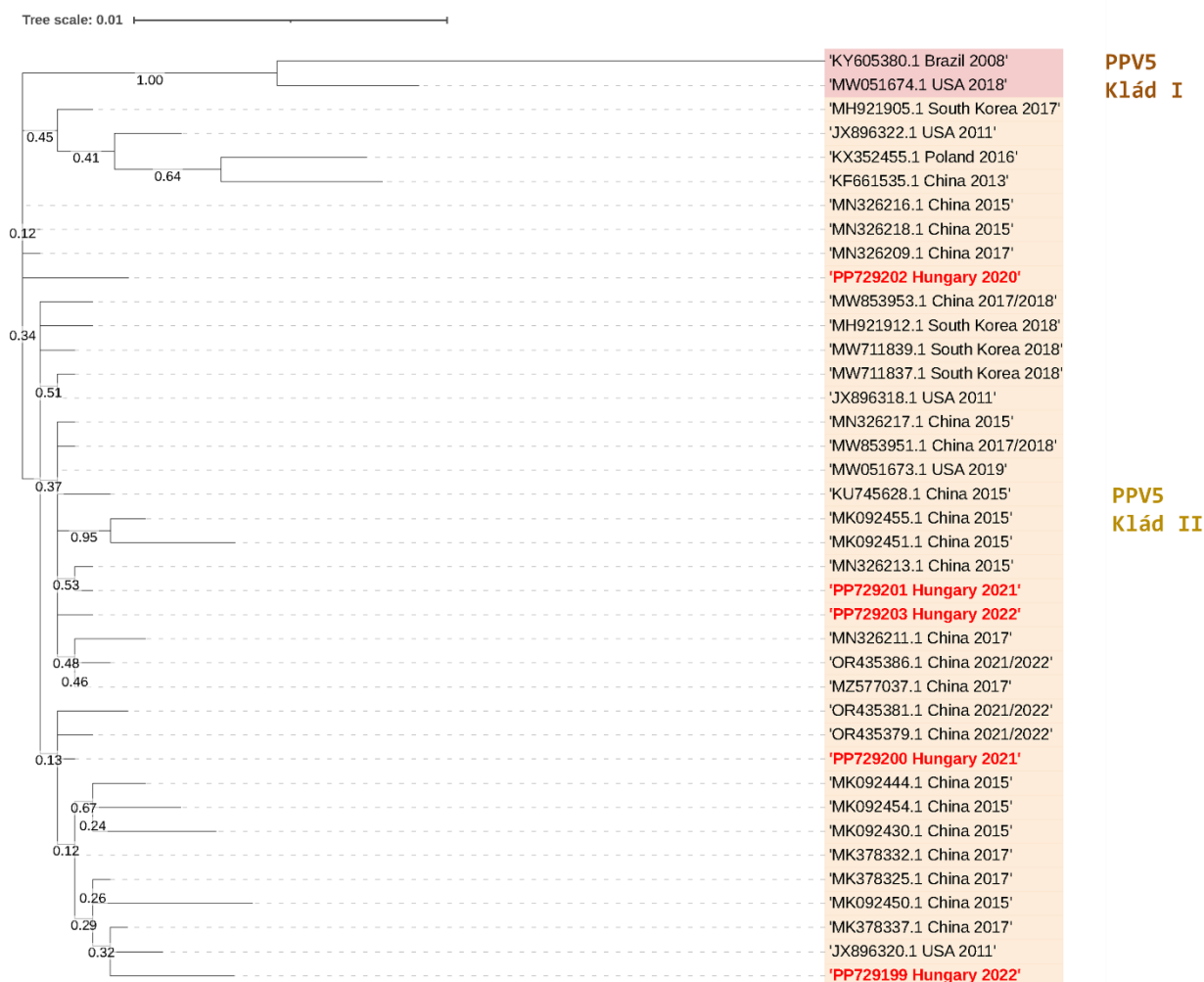
22. ábra. A magyarországi PPV4-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

A hazai törzseket a filogenetikai elemzés során meghatározott, két elkülönülő kládba tartozó törzsek egyes szekvenciáihoz illesztettük. A különböző klaszterbe tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatók. A variábilis régiót fekete bekeretezés jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

A PPV5 esetében öt teljes NS1 génszekvenciát sikerült meghatározni, amelyeket 35 különböző eredetű szekvenciával összehasonlítva végeztük el a filogenetikai elemzést. A Maximum Likelihood filogenetikai fa két kládra osztható (23. ábra), és a kládokon belül (klád I: 98,37–99,94%, klád II: 97,58–98,49%), de a kládok között is igen nagymértékű, 97% feletti nukleotid-azonosságot tapasztaltunk. A hazai szekvenciák a különböző eredetű referenciaszekvenciákkal 97,18–99,89%-os egyezést mutattak a nukleotidsorrendet vizsgálva és 97,5–100%-os egyezést a vizsgált NS gén aminosavsorrendjét összehasonlítva. Továbbá az általunk detektált hazai szekvenciák is igen nagyfokú (99,22–99,78% nukleotid- és 99,5–100% aminosavsorrendje) azonosságot mutattak. A hazai szekvenciák az általunk készített fán a második kládba tartoztak, amely feltehetően a nagyfokú nukleotid-azonosság miatt igen eltérő földrajzi eredetű szekvenciákat tartalmazott. Az első klád ezzel szemben csak kettő szekvenciát tartalmazott, amelyek az USA-ból, illetve Brazíliából származtak.

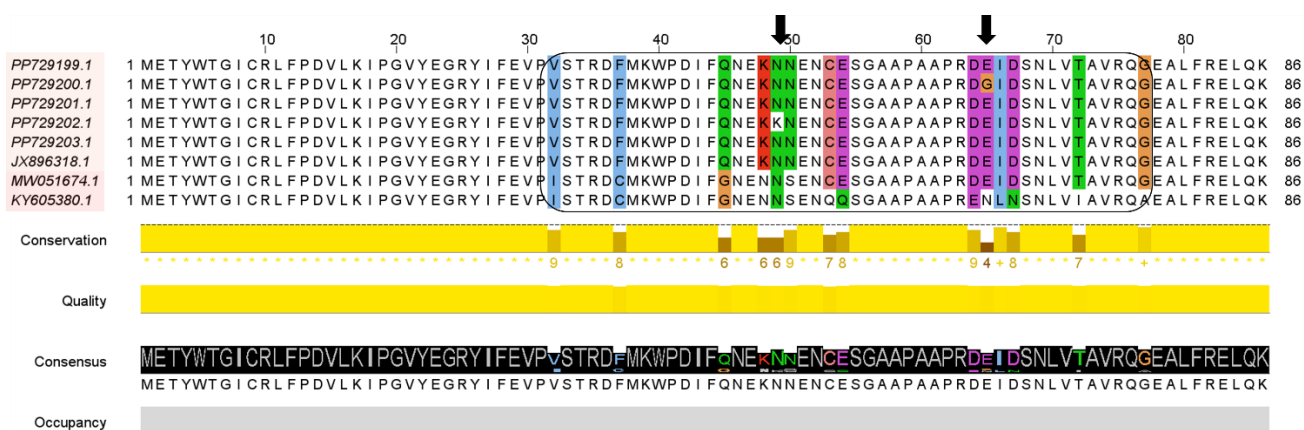
Az összehasonlító elemzés az aminosav-szekvenciák esetében az mutatta, hogy a kettes kládba tartozó különböző eredetű vírustörzsekre jellemző NS fehérjék aminosavsorrendje igen nagymértékben megegyezik. A 601 aminosav hosszúságú gén elején található rövidebb variábilis régió (32–77) főként az egyes kládot alkotó két szekvencia esetében tapasztaltunk jelentősebb eltéréseket (24. ábra). Erre a kládra jellemző motívumnak bizonyult a I/C/G/N/S az 32/37/45/48/50 pozíciókban. A hazai törzsek esetében hat pozícióban azonosítottunk aminosav-mutációkat (N49K, E65G, A216T, S222A, T576A és F598I), ezek

közül egyedül az 576-os pozíció bizonyult variábilisnak a kládok között, ahol T és A aminosavak közel azonos arányban voltak megtalálhatóak a vizsgált szekvenciákban.



23. ábra. A PPV5 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV5 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Hasegawa–Kishino–Yano-modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű, válogatott PPV5-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



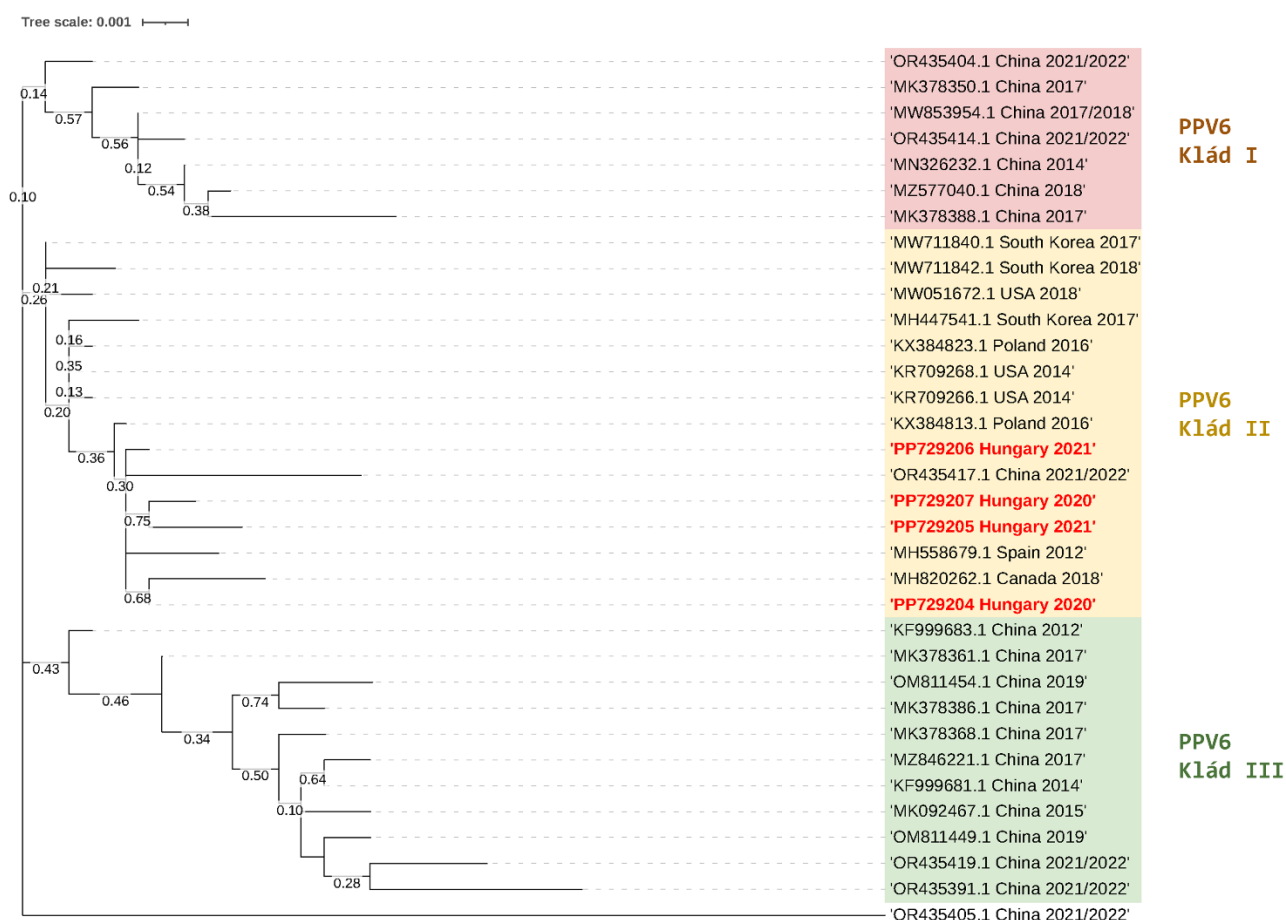
24. ábra. A magyarországi PPV5-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

A hazai törzseket a filogenetikai elemzés során meghatározott, két elkülönülő kládba tartozó törzsek egyes szekvenciáihoz illesztettük. A különböző klaszterbe tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl, variábilis régiót fekete bekeretezés jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

A PPV6 esetében négy teljes NS1 génszekvenciát sikerült meghatározni, amelyeket 30 különböző eredetű szekvenciával összehasonlítva végeztük el a filogenetikai elemzést. Az ML filogenetikai fa három kládra volt osztható (25. ábra) és mindhárom esetben 99%-ot meghaladó nukleotid-azonossága figyeltünk meg az adott kládon belül. A kládok között is igen nagymértékű, 98% feletti nukleotid-azonosságot állapítottunk meg. A hazai szekvenciák egymással igen nagyfokú (99,7–99,9% nukleotid- és 99,55–100% aminosavszerinti) azonosságot mutattak. Ezen kívül a különböző eredetű referencia-szekvenciákkal 97,75–99,9%-os egyezést mutattak a nukleotidsorrendet vizsgálva. A filogenetikai fán elkülönülő első és harmadik kládba kizárólag kínai szekvenciák tartoztak. A hazai szekvenciák a második kládba tartoztak, amely igen eltérő földrajzi eredetű európai, amerikai, illetve ázsiai szekvenciákat tartalmazott. A nagyfokú egyezésnek köszönhető viszonylag alacsony bootstrap-értékek ellenére a magyarországi szekvenciák elkülönülve, a kettes kládon belül külön klasztert alkotva helyezkednek el, egy spanyolországi, egy lengyelországi, egy kanadai és egy kínai vírustörzsszel együtt.

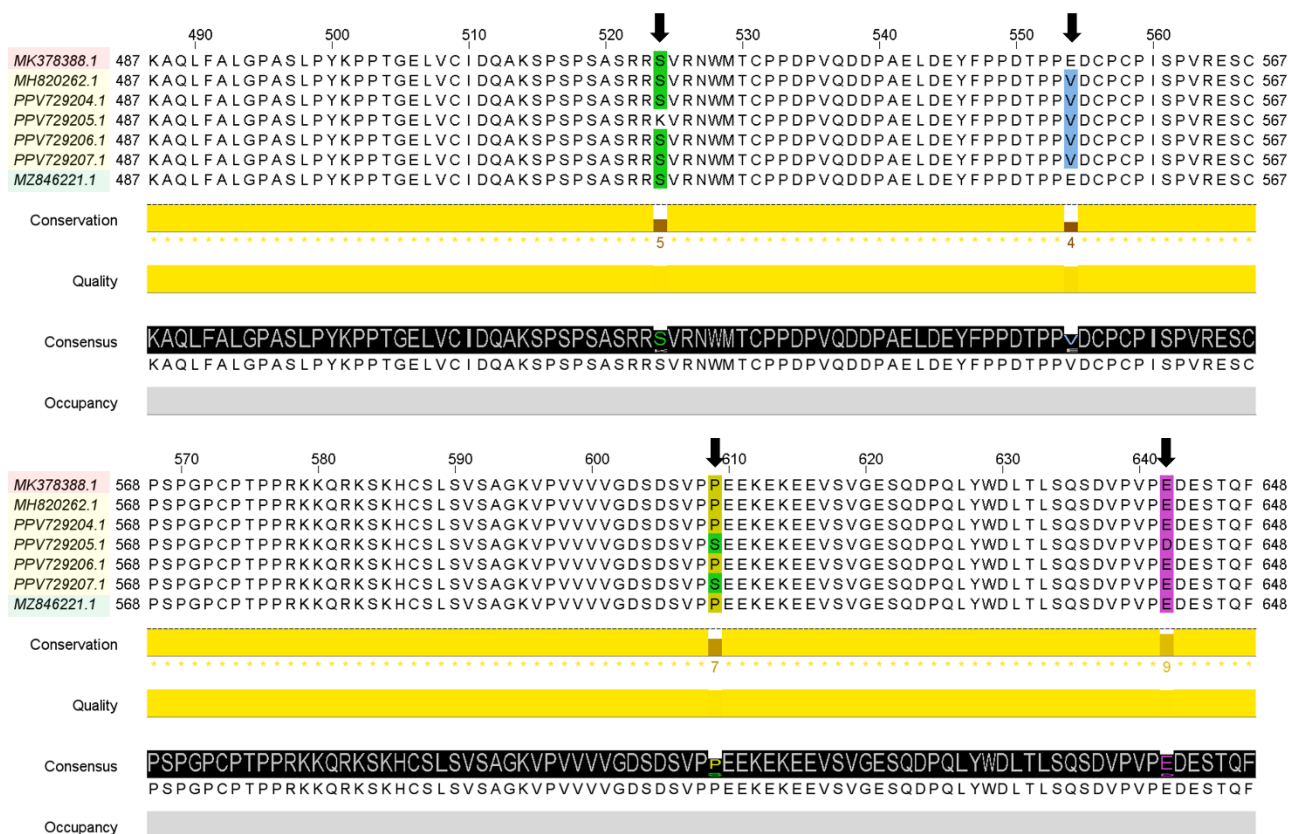
Az összehasonlító elemzés az aminosav-szekvenciák esetében az mutatta, hogy a kettes kládba tartozó különböző eredetű vírustörzsekre jellemző NS fehérjék aminosavsorrendje igen nagymértékben megegyezik (96,98–100%). A 662 aminosav hosszúságú fehérje aminosavsorrendjében a hazai törzsek esetében négy pozícióban

azonosítottunk aminosav-mutációkat: S542K, E554V, P609S és E642D, amelyek közül egyedül az E554V aminosavcsere bizonyult kizárólag a kettes kládra jellemzőnek (26. ábra).



25. ábra. A PPV6 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV6 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Tamura-2 paraméter modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű válogatott PPV6-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



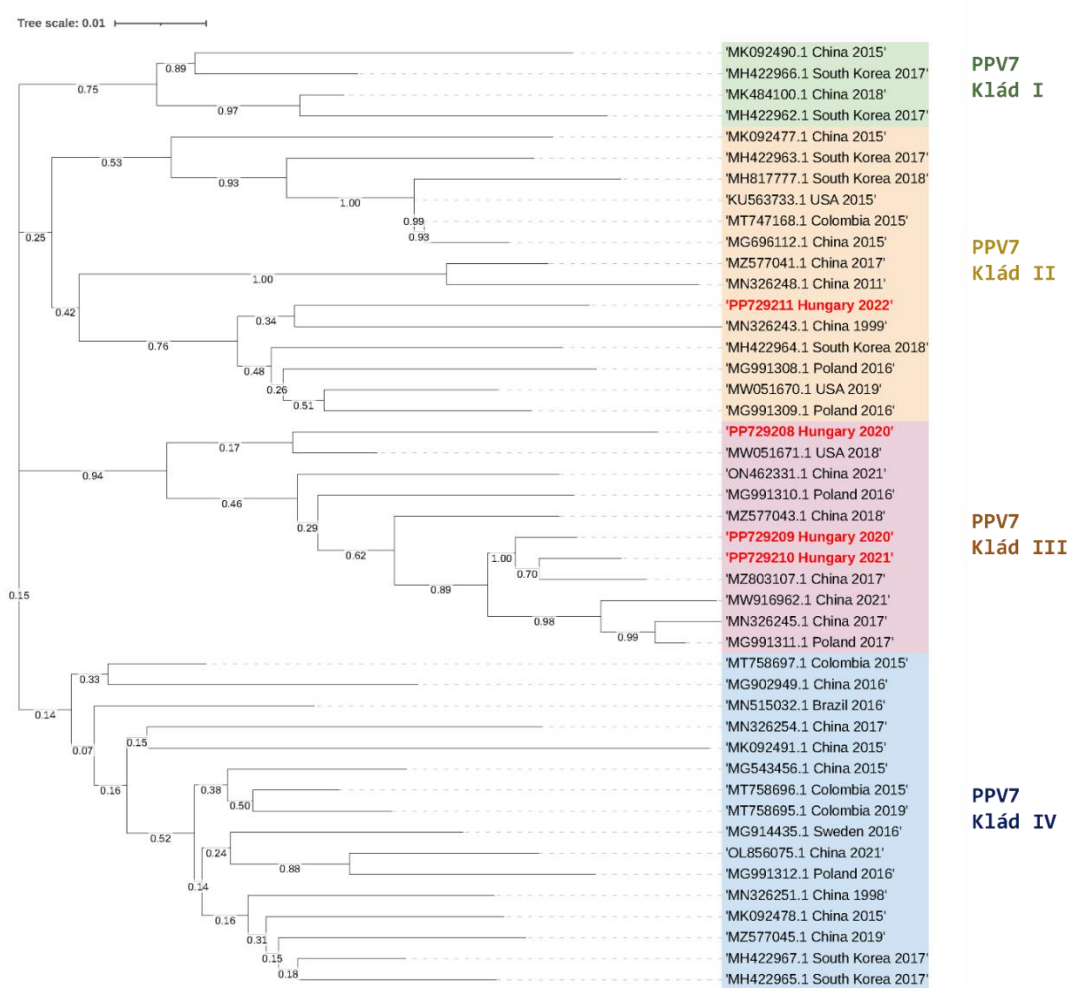
26. ábra. A magyarországi PPV6 törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

A hazai törzseket a filogenetikai elemzés során meghatározott, három elkülönülő kládba tartozó törzsek egyes szekvenciáihoz illesztettük. A különböző klaszterbe tartozó szekvenciák a filogenetikai fán használt színekkel vannak kiemelve. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl, variábilis régiót fekete bekeretezés jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

A PPV7 esetében négy teljes NS1 génszekvenciát sikerült meghatározni, amelyeket 41 különböző eredetű szekvenciával összehasonlítva végeztük el a filogenetikai elemzést. A PPV7 esetében a filogenetikai fa négy kládra volt osztható, amelyek közül a hazai szekvenciák két kládba tartoztak, közeli rokonságot mutatva a lengyelországi, illetve egyes kínai és amerikai szekvenciákkal (27. ábra). Az összehasonlító elemzés a magyarországi szekvenciák között 93,36–98,6%-os azonosságot mutatott, míg az eddig leírt szekvenciákkal 92,56–98,34% közötti a hasonlóságuk, amely viszonylag magas fokú genetikai diverzitásra utal.

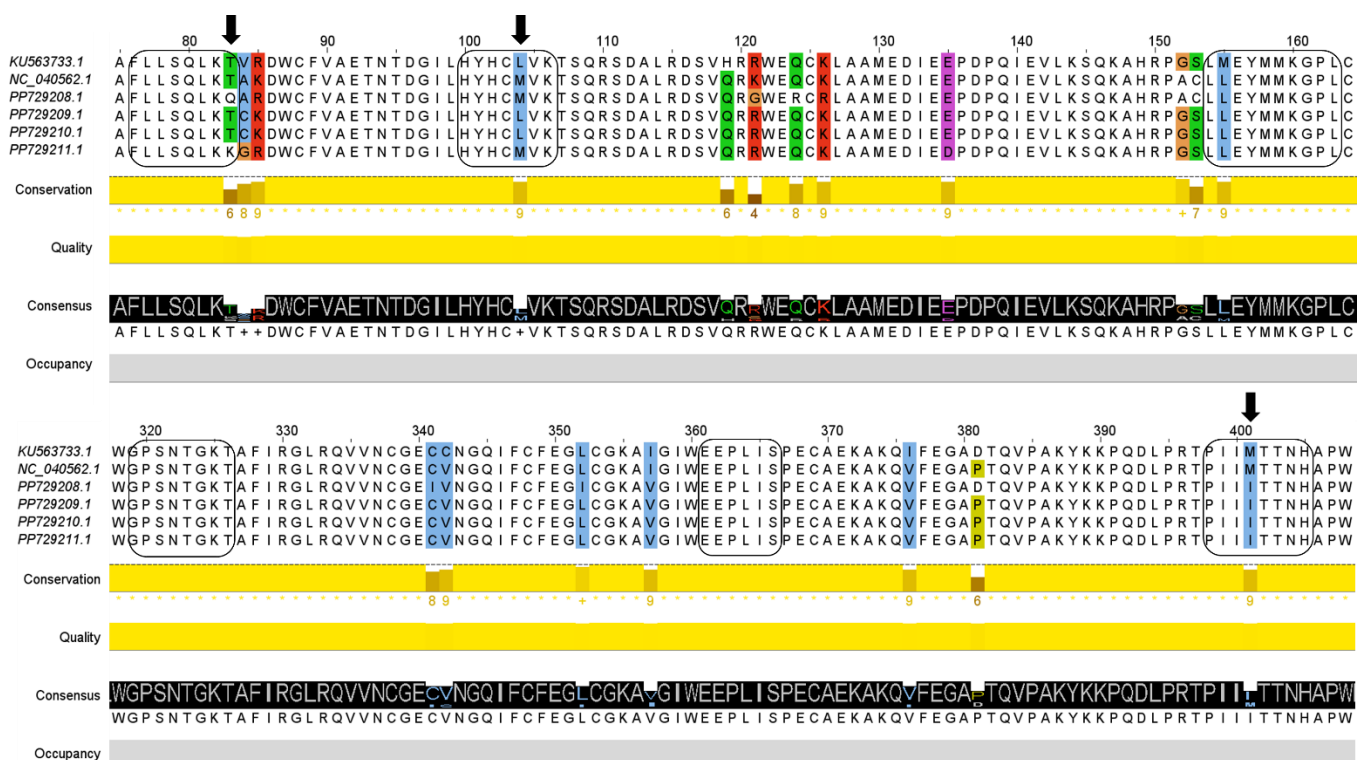
Az 672 aminosav hosszúságú kapszidfehérje aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése 93,15–98,07% közötti egyezést mutatott a hazai szekvenciák között, míg 90,77–98,36%-ot az összes szekvenciát nézve. A kládokon belül a klád I-ben 94,49–

97,02%, a klád II-ben 90,92–99,7%, a klád III-ban 93,45–98,66%-os, míg a klád IV-ben 92,56–98,81%-os egyezést találtunk a besorolt szekvenciák között. A PPV7 NS génje három fontosabb régióval rendelkezik, ezek a replikáció iniciációs motívumok (76–83; 100–106; 154–163), az NTP-kötő motívumok (319–326; 361–366) és a helikáz domén (397–405), amelyek mindegyike nélkülözhetetlen a vírusreplikációhoz. Mivel a PPV7 esetében kimagaslóan nagy mértékű diverzitást tapasztaltunk a vizsgált NS génszekvencia nukleotid- és aminosavsorrendjét illetően is, így ezeket a fontosabb területeket érintő mutációkat emelnénk ki (28. ábra). A három régió közül a replikáció iniciációs motívumokban két aminosav-mutációt azonosítottunk: T83K és M104L. A helikáz doménben további egy aminosavcserét találtunk mindegyik hazai szekvenciában: M401I.



27. ábra. A PPV7 NS1 (ORF1) szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV7 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a General Time Reversible paraméter modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű válogatott PPV7-törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



28. ábra. A magyarországi PPV7-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemése.

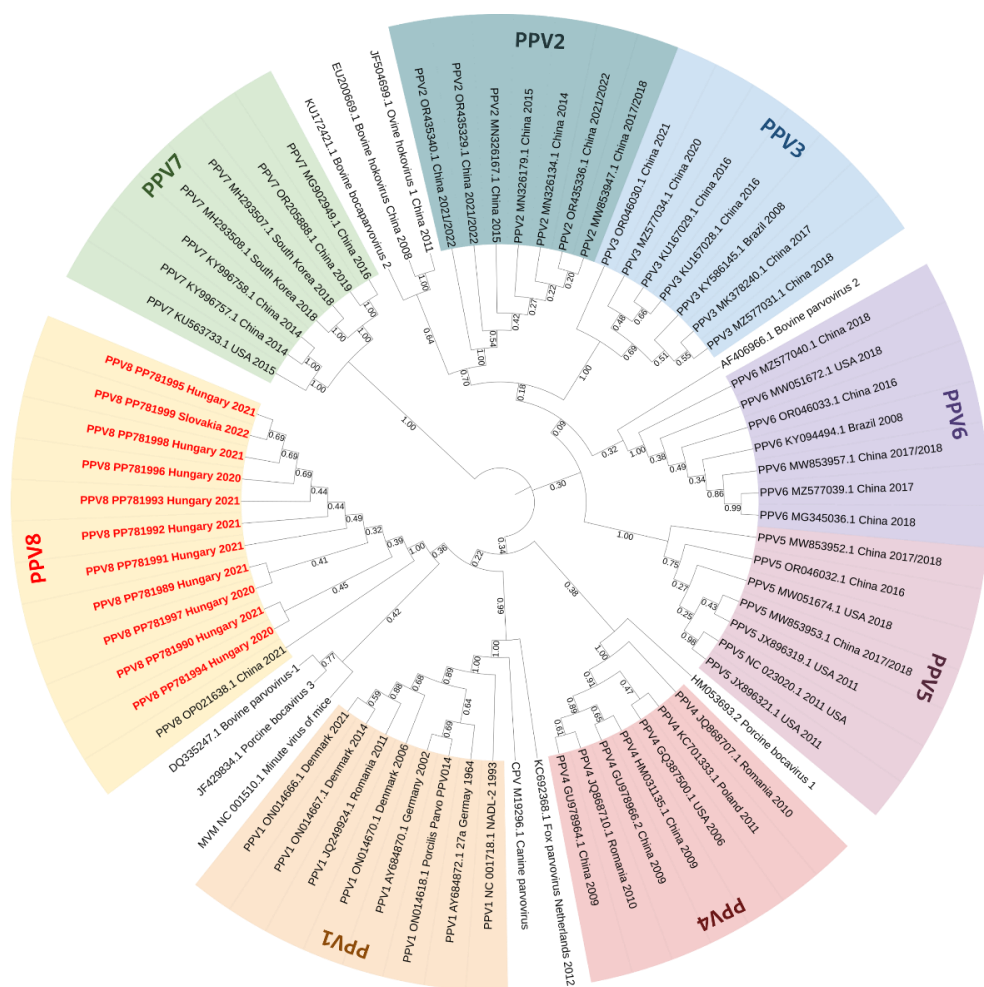
A hazai törzseket két referencia-szekvenciához illesztettük. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A replikáció iniciációs-, ill. NTP-kötő motívumok és a helikáz domén feketével bekeretezve; az ezekben található hazai törzsekre jellemző aminosav-mutációk pedig fekete nyíllal jelölve láthatók. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

A PPV8 esetében csak részleges kapszid (VP2) szekvenciákat állapítottunk meg, négy hazai szérumbintából, továbbá hat hazai és egy szlovákiai telepről származó rágókötelemintából. Mindegyik minta 554 bázispár hosszúságú, amelyeknek az elsődleges azonosítása az NCBI BLAST rendszerben egyetlen találatot eredményezett, amely a vizsgálat időpontjában az egyetlen feltöltött, Kínában leírt PPV8 (GDJM2021) szekvencia. A kínai törzsszel az összes magyarországi szekvencia 98,02–99,1%-ban megegyezett. Hasonlóan, a szlovákai szekvencia is nagymértékben megegyezett a kínai (99,1%), illetve a magyarországi törzsekkel is (97,83–99,64%). Az összehasonlító elemzések alapján az általunk leírt szekvenciák 97,04–99,6%-ban egyeztek meg a nukleotid- és 97,83–100%-ban az aminosavsorrendet vizsgálva.

A kevés elérhető PPV8 szekvencia miatt a filogenetikai fát összesen 61 különböző eredetű referencia parvovírus VP2 szekvencia használatával készítettük (29. ábra). Az evolúciós fán nyolc klád különíthető el, amelyek mindegyike egy-egy PPV-t és a hozzájuk

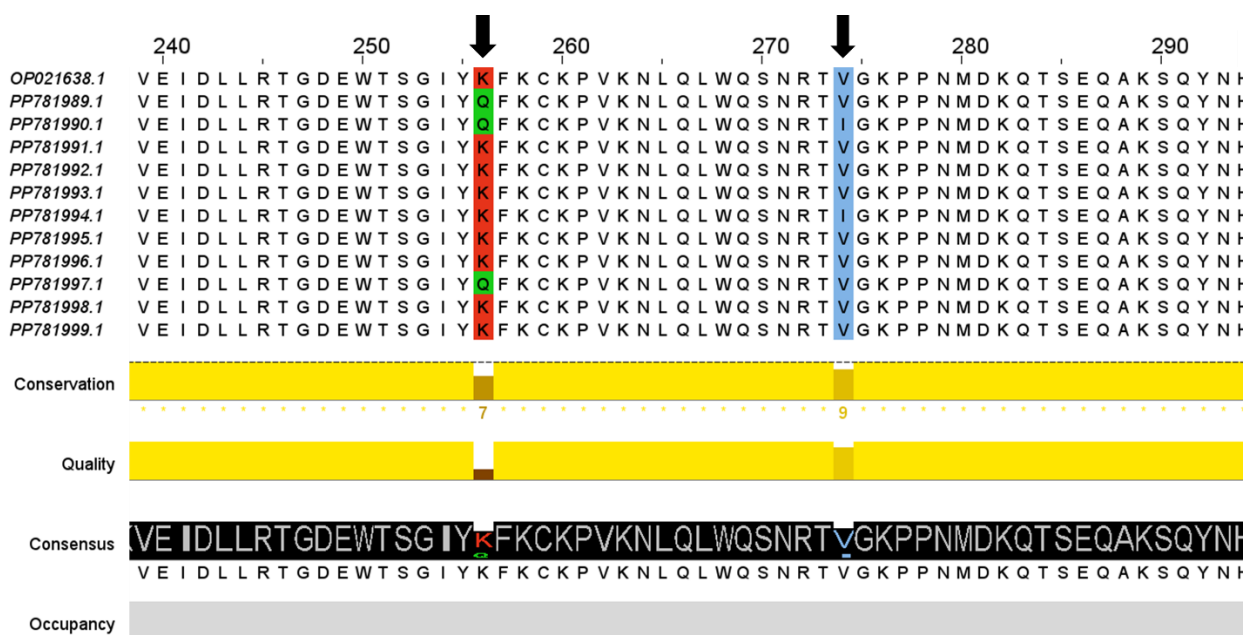
genetikailag közel álló, azonos nemzetségen belüli egyéb parvovírusokat képviseli. Mind a 11 PPV8 szekvenciánk a kínai GDJM2021 törzzssel külön kládot alkotott, de a PPV1 szekvenciákkal és a *Protoparvovirus* nemzetségbe tartozó egyéb parvovírus-szekvenciákkal is közös filogenetikai csoportot képeztek. A PPV8 szekvenciáink 28,16–32,94%-os nukleotid-azonosságot mutattak a *Protoparvovirus* nemzetség más tagjaival, és csak 22,09–31,76%-os interklaszter homológiát az új PPV-kkel (PPV2–PPV7).

A hazai törzsekben két aminosav-mutációt azonosítottunk a vizsgált kapszid génszakaszon (30. ábra). A kínai törzsekhez viszonyítva szintén két aminosav-mutációt azonosítottunk a hazai szekvenciák esetében. A VP2 gén start kodonjától számított K256Q mutációt három, míg a V274I mutációt két törzsnél detektáltuk, amelyek közül egynél mind a két mutáció jelen volt.



29. ábra. A PPV8 részleges VP2 (ORF2) szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PPV8 filogenetikai fát MEGAX programmal, Neighbor Joining módszerrel, a p-távolság modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, különböző eredetű, válogatott parvovírus VP2 szekvenciákat illesztettük az általunk meghatározott részleges magyarországi és szlovákiai szekvenciákhoz, amelyek a filogenetikai fán pirossal jelölve láthatóak.



30. ábra. A magyarországi PPV8-törzsek aminosav-szekvenciáinak összehasonlító elemzése.

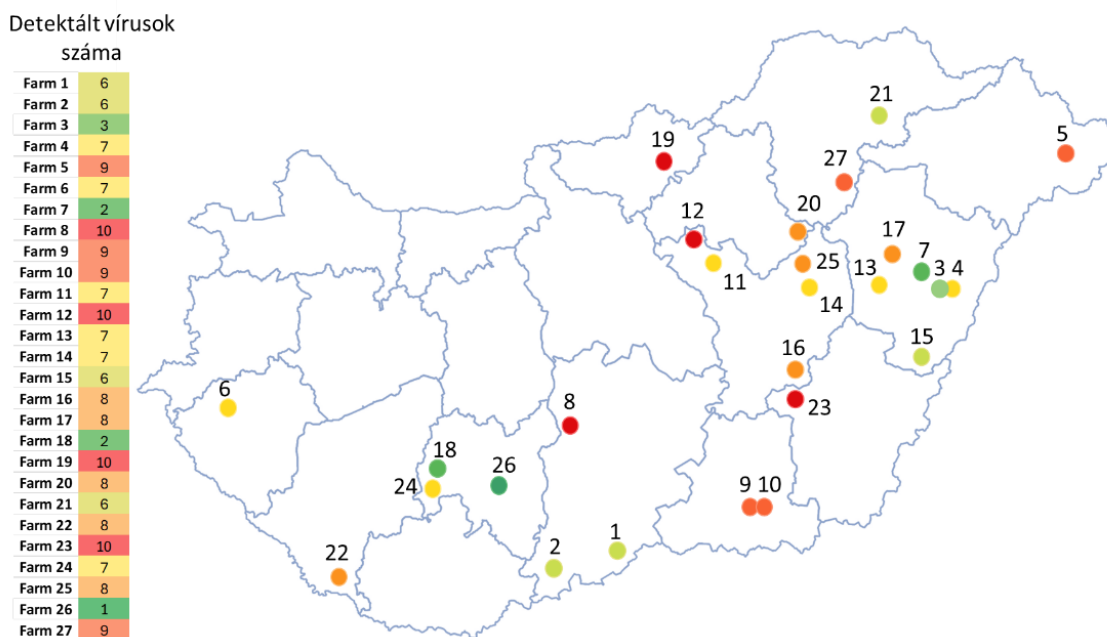
A hazai törzseket az elsőként meghatározott PPV8 referencia-szekvenciához illesztettük. Az előforduló aminosav-mutációk az egyes aminosavak fiziko-kémiai tulajdonságai alapján különböző színnel jelölve láthatóak. A hazai törzsekre jellemző misszensz mutációkat fekete nyíl jelöli. Az illesztési annotációk közül a „Conservation” a konzervált tulajdonságokat, a „Quality” a mutációk valószínűségét, a „Consensus” a leggyakoribb aminosav előfordulását, míg az „Occupancy” az adott pozícióban jelen lévő szekvenciák számát jelzi.

8 Megbeszélés

Az elmúlt évtizedekben a sertéstenyésztésben bekövetkezett strukturális változások nemcsak a termelési hatékonyság növelését tették lehetővé, hanem jelentősen hozzájárultak a fertőző ágensek gyorsabb terjedéséhez is. A nagyobb telepeken az állatok, dolgozók, takarmány és eszközök közötti intenzív mozgás elősegíti a fertőző betegségek gyors terjedését, ami új kihívásokat állít a járványvédelem elé. Az állomány szintű monitorozás során az olyan elegyminták alkalmazása, mint a rágóköttel és a herelési folyadék, különösen hatékonyak bizonyulnak a kórokozók jelenlétének gyors észlelésében. Munkám során felmértem a mintázott sertéstelepeken a sertéscirco- és parvovírusok, köztük a gazdasági szempontból kiemelten jelentős PCV2 és PPV1, valamint az újabban azonosított PCV3, PCV4 és PPV2–PPV8 előfordulását. Ezeknek a vírusoknak a folyamatos monitorozása fontos információkkal szolgál a védekezési stratégiák hatékonyságának értékeléséhez. Az újonnan leírt vírusok prevalenciájának felmérése, továbbá a termelési mutatókkal való összevetése pedig alapvető fontosságú a járványtani jelentőségük és kórokozó szerepük megértésében, különösen annak fényében, hogy világszerte egyre szélesebb körben terjednek el.

8.1 A vírusok előfordulása

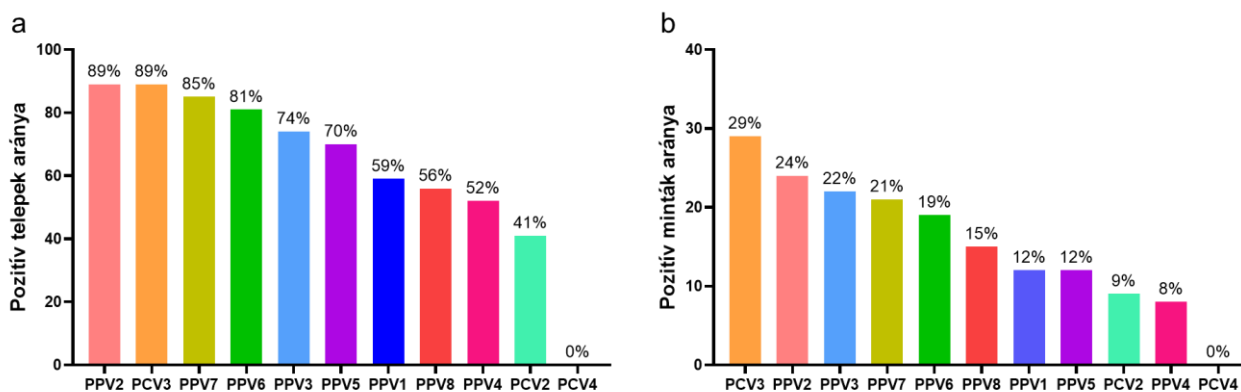
A magyarországi prevalenciavizsgálatunk eredményei azt mutatták, hogy a PCV4 kivételével az összes általunk vizsgált vírus széles körben elterjedt Magyarországon. A felmérésünkben résztvevő sertéstartó telepek 89%-ában (24/27) legalább egy circovírus, míg 96%-ában (26/27) legalább egy parvovírus megtalálható volt. Nem volt egyetlen olyan állomány sem, amely a mintavételezés időpontjában minden vizsgált vírusra negatív eredményt adott volna. A 31. ábrán bemutatott eredmények alapján az egyes telepek, a mintavételezés időpontjában különböző mértékben voltak pozitívak a 11 vizsgált vírusra. Egy telepen kizárólag a PPV8-at sikerült kimutatni, míg a többi telepen több vírus is jelen volt; sőt, négy állományban a PCV4 kivételével mind a tíz vizsgált PCV és PPV egyidejű cirkulációját azonosítottuk.



31. ábra. A fertőzött állományok földrajzi elhelyezkedése, kiemelve az előforduló vírusok számát.

Az egyes telepeket különböző színekkel jelöltük attól függően, hogy hány különböző PCV-t és PPV-t sikerült kimutatni. A színváltozás tükrözi a telepeken egyidejűleg jelen lévő vírusok számát: zöld jelölés a legkevesebb, míg a piros a legtöbb vírust jelzi. Az egyes állományokban együttesen keringő vírusok száma az ábra bal oldalán feltüntetve látható.

A magyarországi vírustörzsek prevalenciája – azaz a pozitív telepek aránya – jelentősen eltért a vizsgált vírusok esetében: a legkevesebb telepen csak a PCV2-t (41%), míg a legtöbb telepen a PPV2-t és a PCV3-at (89%) detektáltuk (32/a ábra). A PCV2 esetében feltételezhető, hogy a széles körben alkalmazott vakcinázás következtében az állományon belüli prevalencia olymértékben lecsökkent, hogy egyes telepeken a vírus jelenlétének igazolásához a félmérésben használt mintatípusok jellege és száma statisztikailag kevésnek bizonyult. A 32/b ábrán látható, hogy az összes mintát alapul véve ($n = 843$ vérsavópool, rágókötél- és herélésifolyadék-minta), ehhez képest némi eltérést tapasztalunk, miszerint a legtrikábban előforduló vírus a PPV4 (8%), míg a legelterjedtebb a PCV3 (29%) volt. Ez azzal magyarázható, hogy az egyes vírusok különböző gyakorisággal fordultak elő az állományokban: míg néhány telepen csak egy-egy pozitív mintát találtunk, más állományokban a minták közel háromnegyede pozitív volt egy adott kórokozóra. A PCV2 esetében jellemzően azt tapasztaltuk, hogy a többi vírushoz viszonyítva kevés telepen (11/27) fordult elő, de a PCV2-pozitív telepeken viszonylag nagy arányban találtunk pozitív mintákat. Ez feltehetőleg azt jelzi, hogy az adott vírus, amennyiben bekerül az adott állományba, könnyebben képes elterjedni az állatok között. Hasonló eloszlást figyeltünk meg a PPV1 és két új parvovírus (PPV4 és PPV5) esetében is.



32. ábra. Összesített eredmények a PCV- és PPV-pozitív magyarországi telepek ($n = 27$) (a), és minták ($n = 843$) (b) előfordulási arányáról.

A bal oldali diagram az egyes vírusokra pozitív telepek prevalenciáját mutatja be, míg a jobb oldali diagram a pozitív minták prevalenciáját ábrázolja. A minták esetében a savó-, a rágókötel- és a herélési-folyadékmintákat összesítettük.

Fontos megjegyezni, hogy a PCV2 és PPV1 világszerte endémiás vírusok, amelyek ellen széleskörű vakcinázással védekeznek, így diagnosztikai szempontból az alapvetően egészséges állományokban a vírusok előfordulásának megállapítása kevésbé informatív (Segalés & Sibila, 2022). Az általunk alkalmazott felmérés főleg a vírusok elterjedtségének a monitorozása és a telepeken alkalmazott védekezési stratégiák hatékonyságának felmérése szempontjából szolgáltat hasznos információkat. Az újonnan leírt vírusok esetében viszont a prevalencia-adatok meghatározása az egyik első fontos lépés a vírusok karakterizálásában.

A vérsavómintákat nézve az új vírusok közül a PCV3 prevalenciája (28%) hasonló eredményeket mutatott a Lengyelországban (25%) (Stadejek és mtsai, 2017) és Dániában (30%) leírtakhoz, míg valamivel gyakoribb előfordulást figyeltünk meg az Olaszországban (18,2%), Spanyolországban (14,9%) (Franzo, Legnardi, Hjulsager, és mtsai, 2018) és Szlovéniában (13,1%) (Plut és mtsai, 2020) végzett vizsgálatokhoz képest. Az egyes újonnan azonosított PPV-k kimutatási arányai a vérsavómintákból általában hasonlóak voltak vagy kissé eltértek a különböző országokban megfigyelttől: a hasonló átfogó, nagyszámú állományokat érintő felmérésekben a PPV–PPV7-pozitív minták aránya általánosságban 5–20% között mozgott (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012; Opriessnig, Xiao, Gerber, & Halbur, 2014; J. Sun és mtsai, 2015; Milek és mtsai, 2019, 2020; Garcia-Camacho és mtsai, 2020; J. Li és mtsai, 2021; Bisimwa és mtsai, 2021; Vargas-Bermúdez és mtsai, 2021; Thuy és mtsai, 2021; Y. Guo és mtsai, 2022; S.-C. Kim és mtsai, 2022; Ouh és mtsai, 2023; Komina és mtsai, 2024). Fontos megjegyezni, hogy a különböző mintavételi protokollok, a különböző mintatípusok alkalmazása, valamint a mintázott állatok eltérő életkora, egészségi állapota és száma jelentősen megnehezíti eredményeink összehasonlíthatóságát a korábbi parvo-, illetve circovírusokkal kapcsolatos kutatásokkal. Magyarországon eddig egy PPV-et érintő

prevalencia-vizsgálatot végeztek 2012-ben, amely során a PPV1, PPV2, PPV3 és PPV4 jelenlétét vizsgálták 57 állományból gyűjtött különböző mintatípusokban, köztük 111 szérummintában (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012). Összesen egy telepen azonosították a PPV1 jelenlétét, míg az új PPV-ket jóval nagyobb gyakorisággal detektálták: a PPV2 15 (26%), a PPV3 19 (33%), a PPV4 pedig 13 (23%) telepen fordult elő a különböző mintákban. A vérsavók vizsgálata során a PPV1 és PPV2 esetében az általunk leírtakhoz képest (8% és 23%) jelentősen kisebb prevalenciát figyeltek meg, mindössze a szérumminták 1,1%-a volt PPV1- és 5,4%-a PPV2-pozitív. A PPV3 és PPV4 esetében viszont a pozitív szérumminták aránya (14,4% és 2,7%) csak kissé volt alacsonyabb a mi eredményeinknél (17% és 6%) (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012), ami arra enged következtetni, hogy az elmúlt évtizedben ezek a vírusok meginkább elterjedtek a hazai állományokban. Az eltérést a kisebb alkalmazott mintaszám (5–12 minta/telep), illetve a poolozott minták helyett az egyedi minták használata is okozhatja. A PPV5, PPV6, PPV7 és PPV8 esetében eredményeink jelentik az első tudományos bizonyítékot a vírusok jelenlétére Magyarországon, amelyek közül a PPV8 jelenlétét kínai kutatók után a világon először azonosítottuk.

A rágókötélminták használatát sertéspatogének detektálására először Prickett és munkatársai írták le 2008-ban, amikor PRRSV és PCV2 vizsgálatát végezték növendék malacok esetében (J. Prickett és mtsai, 2008). Azóta ez a módszer széles körben elterjedt, és sikeresen alkalmazták számos jelentős sertéspatogén különböző antigén- illetve ellenanyag-kimutatáson alapuló vizsgálataikhoz. Az általunk vizsgált vírusok közül, a nemrégiben azonosított PPV8 kivételével, mindegyiket kimutatták már rágókötélminták vizsgálata során is (Milek és mtsai, 2019; B. S. Park és mtsai, 2024). Ez a nem invazív mintavételi módszer gyors, egyszerű és költséghatékony, a minták megbízhatóan reprezentálnak egy teljes karámnyi állatot. Rágókötélmintákat használtak már a PCV2 állományon belüli fertőzésdinamikájának a meghatározására természetes úton (Ramirez és mtsai, 2012; Oliver-Ferrando és mtsai, 2016; Eddicks és mtsai, 2022), illetve mesterségesen fertőzött (J. R. Prickett és mtsai, 2011) állatok esetében is, amelyek során az eredmények jól tükrözték a fertőzött állatok savómintáiban detektált értékeket. A PCV2 előfordulásának felmérésére a lengyelországi sertéstelepeken szintén használtak rágókötélmintákat, amelyeknek közel a fele (48,8%) pozitív lett a vírusra (Woźniak, Milek, Matyba, és mtsai, 2019). Ez a miénknél (13%) jóval nagyobb előfordulási arány azzal magyarázható, hogy ez a tanulmány olyan telepeket is magába foglalt, amelyeken nem vakcináztak a PCV2 ellen, hiszen a PCV2 esetében a vakcinázás jelentős szerepet játszik a vírus terjedésének mérséklésében. Eredményeik alátámasztják, hogy a rágókötélminták megfelelőek a vírus monitorozására, de annak érdekében, hogy meghatározzuk az alkalmazott vakcinázási és védekezési stratégiák hatékonyságát inkább a szérumminták használata ajánlott. Egy németországi felmérésben mind a PCV2 (72,6%), mind a PCV3

(6,2%) esetében a hasonló korosztályú állatoktól gyűjtött rágókötélminták nagyobb arányú pozitivitást mutattak, mint amit a hazai állományok esetében tapasztaltunk (13% és 28%) (Eddicks és mtsai, 2022). Eredményeinkhez hasonlóan, egy koreai tanulmány 44,2%-os (Kwon és mtsai, 2017), míg egy lengyelországi kutatás 37,3%-os PCV3-prevalenciát detektált rágókötélminták vizsgálata során (Woźniak és mtsai, 2020). Ezzel szemben a kínai kutatók alacsonyabb PCV3-prevalenciát írtak le (12,3%) (Z. Guo és mtsai, 2019), míg egy szlovéniai tanulmány rendkívül nagy kimutatási arányt (73%) jelentett ebben a mintatípusban (Plut és mtsai, 2020). Az eltérésekben a vírus elterjedtségén kívül szerepet játszhattak a különböző vizsgálati körülmények, mintatípusok és földrajzi különbségek, beleértve az egyes országok eltérő járványtani helyzetét, állattartási gyakorlatait és ökológiai viszonyait.

A PPV1–PPV6-pozitív rágókötélminták elemzése során eredményeink kissé alacsonyabb prevalenciákat mutattak a lengyelországi 2019-es felméréshez képest (Milek és mtsai, 2019), kivéve a PPV1 és PPV3 esetében, ahol hasonló eredményeket láttunk. Eredményeink alapján a PPV7 különösen magas prevalenciát mutatott a rágókötélmintákban, mivel a minták több mint fele pozitív volt. Kínai kutatók PPV7 prevalencia-felmérés során kisebb kimutatási arányokat írtak le a rágókötelekhez hasonló nyálminták vizsgálata során (X. Zhang és mtsai, 2022). Továbbá a legújabban leírt PPV8 genomját is kimagasló gyakorisággal azonosítottuk a rágókötélmintákban, amelyeknek közel 50%-a pozitív lett erre a vírusra. A rágókötélminták nagy pozitívítási aránya arra utal, hogy a vizsgált vírusok mindegyike, valószínűleg az orofekális útvonalon (is) terjedhet, és az állatok közvetlen érintkezés révén könnyen átadhatják egymásnak a fertőzést. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy a vizsgált vírusok gyorsan terjednek az állatok között, még akkor is, ha a fertőzés klinikailag nem nyilvánul meg. Ez különösen fontos a szubklinikai fertőzések gazdasági hatásainak megértése szempontjából, mivel ezek a fertőzések rejtve maradhatnak, de hozzájárulhatnak a termelési mutatók, például a növekedési ráta vagy a reprodukciós teljesítmény romlásához.

A herélésifolyadék-minták használata különböző fertőző ágensek jelenlétének monitorozására számos jól ismert előnnyel jár, és különböző sertéspatogének, köztük először a PRRSV (Lopez és mtsai, 2018; Trevisan és mtsai, 2019), majd később az APPV (Dénes és mtsai, 2022) vagy a *Mycoplasma hyopneumoniae* (Vilalta és mtsai, 2019) kimutatására is sikeresen alkalmazták. Eredményeink alapján alkalmas az összes általunk vizsgált vírus kimutatására, amelyek közül a PCV3-at kimagasló gyakorisággal (60%) detektáltuk a herélési folyadékokban. Ez arra enged következtetni, hogy a herélési folyadékok használata egy praktikus módszer lehet a PCV3 jelenlétének azonosítására egy adott állományban, valamint a PCV3-fertőzés monitorozására az újszülött malacokban. Ennek azért is lehet igen nagy jelentősége, mert magzatok és újszülött állatok esetében a PCV3-fertőzést légzőszervi rendellenességekkel, hasmenéssel, vetéléssel, korai elhullással, myocarditisszel és

neurológiai rendellenességekkel is összefüggésbe hozták (Phan és mtsai, 2016; Arruda és mtsai, 2019; Alomar és mtsai, 2021; Saporiti, Valls, és mtsai, 2021; Vargas-Bermúdez és mtsai, 2021). A vírus előfordulása ebben a korcsoportban azt is jelenti, hogy aktív víruscirkuláció zajlik a kocák, illetve süldők között, valamint transzplacentáris fertőzés is előfordulhat. Egy amerikai retrospektív tanulmány szintén nagy gyakorisággal mutatta ki a PCV3-at PDNS és PCV2-SD klinikai eseteiben, valamint abortált magzatok szöveteiben. Számos különböző mintatípust, beleértve vérsavó-, rágóköttél- és herélésifolyadék-mintákat is teszteltek PCR-módszerrel, amelynek eredményeként a pozitív minták aránya igen (14% a vérsavó-, 39% a rágóköttél- és 60% a herélésifolyadék-minták esetében) hasonló volt az általunk kimutattakhoz (Piñeyro és mtsai, 2018).

Herélésifolyadék-mintákat tudomásunk szerint mi használtunk először PPV1–PPV8 szűrésére. Annak ellenére, hogy általában csekély kimutatási arányokat figyeltünk meg, sikeresen azonosítottuk az összes PPV-t a herélésifolyadékokban. Érdekes módon a PPV3 és a PPV6 volt a legnagyobb arányban kimutatható a herélésifolyadék-mintákban, amelyek közül a PPV6-fertőzést összefüggésbe hozták már reprodukciós zavarok kialakulásával (Ni és mtsai, 2014). A hazai PPV6-pozitív telepek szaporodásbiológiai mutatóinak összehasonlítása során megállapítottuk, hogy az egyik legnagyobb állományon belüli PPV6-terheltségű telepen volt a legnagyobb elhullás a fiaztatóban (16,2%), és egy másik hasonlóan terhelt állományban az átlagosnál rosszabb volt a vemhesülési (85%) és a fialási arány (70%). Eredményinkhez hasonló megállapításra jutott egy észak-olaszországi sertéstelepeket vizsgáló friss tanulmány, amely szerint a PPV6 gyakran kimutatható és potenciálisan összefüggésbe hozható volt szaporodásbiológiai zavarokkal (Faustini és mtsai, 2024).

A különböző diagnosztikai mintatípusokat összehasonlítva elmondható, hogy a felméréshez választott mintatípusok megfelelőek arra, hogy az állományokban a lehető legszélesebb körben, minden korosztályból nagyszámú állatot megvizsgálva mérjük fel az egyes vírusok előfordulását és terjedését. A rágóköttél- és a herélésifolyadék-minták gyűjtése a sertéstartó telepeken viszonylag könnyen kivitelezhető, nem igényel jelentős plusz munkát a mindennapi teendők mellett. Eredményeink arra utalnak, hogy ezeknek a mintatípusoknak a használata egy igen praktikus megoldást kínál a PCV2, a PCV3 és a PPV1–PPV8 jelenlétének szűrésére egy adott állományban.

A különböző diagnosztikai mintatípusokat összehasonlítva az összes PPV esetében elmondható, hogy genomjukat gyakrabban detektáltuk rágóköttélmintákban, mint savóban vagy herélésifolyadék-mintákban. A PCV2 esetében a savó- és rágóköttélminták között nem találtunk jelentős eltérést, de herélésifolyadék-mintákban a PCV2-pozitivitás aránya szignifikánsan kisebb volt, ami a tenyészállomány és rajtuk keresztül az újszülött malacok

védettségére utal. A PCV3-at ezzel ellentétben kimagasló arányban azonosítottuk a herélési-folyadékokból (lásd korábban).

8.2 A korosztályok fertőzősközvetítő szerepe

Az egyes vírusok állományokon belüli fertőzés-dinamikájának megismerése érdekében különböző korcsoportú állatoktól gyűjtöttünk mintákat. Az egyedi vérsavóminták poolozása, valamint a rágókötel- és herélésifolyadék-minták használata lehetővé teszi számunkra, hogy költséghatékony módon egyszerre több állat vírusterheltségéről szerezzünk információt. Az eredményeink azt mutatják, hogy a vizsgált PCV-k és PPV-k minden korcsoportú sertésben jelen vannak és főleg a választott malacok és hízósertések között keringenek.

A PCV2 és PCV3 esetében a vírus előfordulási arányát mutató görbék igen hasonlóak, bár a PCV2-pozitív minták száma minden korosztályban kisebb volt. Összesítve az adatokat a szopós malacok (2–4 hetes) vérsavómintáinak 6,8%-a, a választott malacok (6–10 hetes) 9,3%-a és a hízósertések (14–18 hetes) 14,6%-a volt pozitív a PCV2-re, míg ezek az értékek a PCV3 esetében rendre 17%, 20% és 22,9% voltak. Mindkét vírus tehát növekvő tendenciát mutat a kor előrehaladtával, de eltérést tapasztaltunk az idősebb korosztályoknál, miszerint a PCV2-nél lecsökkent a vírusterhelés a süldők és kocák esetében (5,3%), míg a PCV3-nál kismértékű növekedést tapasztalunk (27%). A PCV-knél a 2 hetes korcsoportban megfigyelt csekély kimutatási arány feltehetőleg a maternalis immunitás védő szerepével magyarázható, majd a 4–8 hetes állatok esetében a védelem gyengülésével összefüggésben enyhe növekedés tapasztalható. Emellett választáskor az állatokat érő, immunrendszert gyengítő környezeti stresszhatások is állhatnak a 8 hetes korosztályban előforduló nagyobb vírusterheltség háttérében. Az anyai immunglobulinok mennyisége a választás idejére, ill. az azt követő hetekre drasztikusan lecsökken, aminek a szerepét az ezt követő időszakban történő fertőzésekben számos vírus kapcsán leírták (W.-B. Chung és mtsai, 1997; Loeffen és mtsai, 2003; Balka és mtsai, 2016). A 10 hetes malacokban a PCR-pozitív minták csökkenő aránya arra utalhat, hogy a mintavételezett állatokban kialakuló adaptív immunválasz hatására képesek legyőzni a fertőzést. A 14 hetes malacokban észlelt újbóli magasabb kimutatási arányok pedig összefügghetnek az állatok csoportosításával és keveredésével a hízókarámokban. Egy 2019-es longitudinális vizsgálat szintén arra a következtetésre jutott, hogy a PCV2-höz hasonlóan a PCV3 is képes minden korosztályt megfertőzni az érintett sertéstelepeken és hosszan tartó fertőzést okozni (Klaumann és mtsai, 2019). Több kutatás is vizsgálta a PCV3-fertőzés állományon belüli dinamikáját, de fontos megjegyezni, hogy az alkalmazott mintavételi módszerek, valamint a vizsgált állatok életkora és egészségi állapota általában eltérőek voltak. Egy lengyel tanulmány, a saját eredményeinkhez hasonlóan a

vizsgált választott malacok, hízók és kocák mintáinak több, mint egynegyedében azonosította a vírusgenomot (26,1%, 28% és 29% pozitivitás), míg a szopós malacokból származó minták csak 5%-os PCV3-prevalenciát mutattak (Stadejek és mtsai, 2017). Franzo és munkatársai szintén növekvő PCV3-kimutatási gyakoriságról számoltak be a szopós malacoktól a választott malacokig, de a vírus előfordulása az idősebb állatoknál csökkenni látszott (Franzo, Legnardi, Tucciarone, és mtsai, 2018). Ezzel szemben Japánban a szerzők a legtöbb PCV3-pozitív esetet a szopós malacoknál találták (13,3%), amelyet a hízók (9,4%) és a választott malacok (9%) követtek (Hayashi és mtsai, 2018).

A különböző korcsoportok pozitív mintáinak Ct-értékei növekvő tendenciát mutatnak az idősebb állatok felé, ami a genomkópiaszámok mennyiségének csökkenését jelzi. Ez az eredmény a PCV3 esetében a nagyszámú pozitív minta miatt a 9. ábrán igen szépen kirajzolódik, de a PCV2 esetében is látható, hogy a kocákból származó minták Ct-értékei jelentősen nagyobbak, mint a szopós malacok, a választott malacok vagy a hízók mintáiban detektáltak. Adataink azt mutatják, hogy a PCV3 esetében több felnőtt állat fertőzött, mint növendék malac, de a vírus mennyisége kisebb ebben a korcsoportban. Bár a 2 hetes malacok vérsavómintáiban mértük a legkisebb Ct-értékeket, a PCV2 és PCV3 prevalenciája ebben a korcsoportban viszonylag kicsi volt (4%, 11%). Ez arra utal, hogy amennyiben az állatok viraemiásan születnek, vagy nem sokkal a születés után fertőződnek, bennük magas szintű viraemia alakul ki. A legfiatalabb állatok mintáiban mért viszonylag kicsi Ct-értékek, illetve a PCV3 esetében nagy számban tapasztalt pozitív herélésifolyadék-minták összefüggésben lehetnek a vírus vertikális terjedésével és/vagy kolosztrummal történő ürítésével, ahogy azt már korábban is leírták (Kedkovid és mtsai, 2018; Vargas-Bermúdez és mtsai, 2021).

Összeségében a PCV2-pozitív minták kisebb aránya arra enged következtetni, hogy a vizsgált magyarországi állományokban hatásos vakcinázási protokollokat alkalmaznak, illetve a maternalis immunitás megfelelő védelmet biztosít a malacok számára. Számos szerológiai vizsgálat kimutatta már az anyai eredetű ellenanyagok magas szintjét a szopós malacokban, amelyek a választási időszak alatt mérsékelten csökkentek, és választás után érték el a minimumot (Rodríguez-Arriola és mtsai, 2002; Sibila és mtsai, 2004; McKeown és mtsai, 2005; Grau-Roma és mtsai, 2009). Egy svájci tanulmány az első 9 hétben 90%-os csökkenést mutatott ki az anyai ellenanyagtiterekben a vakcinázott kocáktól született malacok szérummintáiban, míg az oltatlan kocák esetében ez az érték 98% volt (Kurmann és mtsai, 2011). Hasonlóan a PCV2-höz, a PCV3-fertőzéssel szemben is előfordulhat egy életkorfüggő fogékonyság (Shen és mtsai, 2012), ami összefüggésben áll az anyai eredetű antitestek csökkenő szintjével, hiszen a legnagyobb PCV3-prevalenciát a süldők és kocák szérummintái között tapasztaltuk, míg a legkisebbet a szopós malacok esetében. További virológiai és

szerológiai vizsgálatokra van szükség ahhoz, hogy megértsük a passzív immunitás és a szerokonverzió szerepét a PCV3-fertőzés esetében.

A PPV-k esetében a PCV-knél észlelt vírusgörbétől eltérően azt tapasztaltuk, hogy a fertőzött állatok arányát reprezentáló görbe általában csak egyszer csúcsosodik ki a 14–18 hetes hízósertések esetében. Ugyanakkor jelentős eltéréseket azonosítottunk a vírusok egyedi prevalenciája között, illetve az egyes korcsoportok vírusterheltsége között. Az összes PPV esetében tapasztalt alacsonyabb kimutatási arány a herélési folyadékokban, valamint a 2 és 4 hetes malacok vérsavómintáiban feltehetően a maternalis immunitás és a passzívan szerzett ellenanyagok megfelelő szintjének köszönhető. Azonban az is elképzelhető, hogy a PPV-k többsége elsősorban nem vertikális úton terjed.

Fontos kiemelni, hogy a PPV1-fertőzés nem vemhes felnőtt állatok esetében általában nem okoz klinikai tüneteket, de vemhesség alatt a vírus képes a placentán átjutva megfertőzni az embriók és magzatok gyorsan osztódó sejtjeit, így kialakítva a jellegzetes SMEDI-kórképet. A vizsgált állományokban a kocasüldők mintáinak majdnem egynegyede PPV1-pozitív volt, emellett a PPV-k közül a PPV1 volt a leggyakrabban előforduló vírus a 2 hetes malacok mintáiban. Eredményeink alapján elképzelhető, hogy egyes pozitív állományokban a vírus képes volt megfertőzni a magzatokat és elszaporodni a fiatal állatokban. Az újonnan azonosított PPV-k közül a vertikális fertőzés elsősorban a PPV3 és PPV6 esetében feltételezhető, mivel ezeket a vírusokat nagy gyakorisággal detektáltuk mind a herélésifolyadék-mintákban, mind a süldők és kocák vérsavójában, továbbá a 2 hetes állatok esetében igen nagymértékű vírusterhelést azonosítottunk.

Az anyai eredetű ellenanyagok védő szerepe eddig csak a PPV2 esetében lett bizonyítva (Cui, Biernacka, és mtsai, 2017), de feltételezhető, hogy fontos szerepet játszik a PPV3–PPV8 fertőzésekben is. A 6, 8 vagy 10 hetes állatokban megfigyelhető relatív fertőzési arány fokozatos növekedése az anyai immunitás csökkenő védelmére utal, amit más vírusok esetében is leírtak már (Rodríguez-Arriola és mtsai, 2002; Loeffen és mtsai, 2003; Grau-Roma és mtsai, 2009; Balka és mtsai, 2016). Ezenkívül a választási stressz is növelheti a fertőzésekkel szembeni fogékonyságot (Boudry és mtsai, 2004; Pié és mtsai, 2004; Campbell és mtsai, 2013). A legnagyobb kimutatási arányokat a 14 és 18 hetes állatoknál tapasztaltuk, ami összefüggésben lehet a hizláló karámokban történő átcsoportosítással. Ezek az eredmények összhangban vannak más PPV2–PPV7 prevalencia-vizsgálatokkal, ahol a szerzők általában kisebb fertőzési arányokat írtak le szopós és választott malacoknál, mint a hízósertések esetében (Xiao és mtsai, 2012; Xiao, Giménez-Lirola, és mtsai, 2013; Cui, Biernacka, és mtsai, 2017; Milek és mtsai, 2018, 2020; Lagan Tregaskis és mtsai, 2021; J. Li és mtsai, 2021).

8.3 A vírusfertőzések termelési mutatókra gyakorolt hatása

Attól függetlenül, hogy a felmérésünkben résztvevő állományok a mintavételezés időpontjában nem jelentettek semmilyen klinikai tünetet, előfordulhat, hogy a szubklinikai fertőzés formájában jelenlévő vírus vagy vírusok negatív hatással voltak az egyes termelési és reprodukciós paraméterekre. Ezt a feltételezést több kutatási eredmény is alátámasztja, miszerint az újonnan leírt PPV-k és az ismertebb patogének mint a PPV1, PCV2, PCV3 és PRRSV együttes fertőzése szaporodásbiológia rendellenességek formájában nyilvánulhat meg (Garcia-Camacho és mtsai, 2020; Faustini és mtsai, 2024).

Eredményeink alapján a PPV1, a PPV5 és a PPV8 esetében merült fel, hogy negatív hatással lehetnek az egyes hizlalási és reprodukciós paraméterekre a fertőzött telepeken. A PPV1-fertőzés a fialási aránnyal volt összefüggésben, amely nem nevezhető meglepőnek egy ismert, reprodukciós problémákat okozó vírus esetében. Mivel a statisztikai elemzésben résztvevő mindegyik telep vakcinázási protokollja tartalmazta a PPV1-elleni vakcinációt is, elgondolkodtató, hogy az alkalmazott védekezési stratégiák megfelelően hatékonyak-e. A PPV5 esetében a vemhesülési százalék, illetve a született malacok száma között találtunk összefüggést. Nemrégiben egy olaszországi felmérés során a vírust kimutatták önállóan és más kórokozókkal társfertőzésben is szaporodásbiológiai problémákkal küzdő sertésállományokban (Faustini és mtsai, 2024).

Érdekes módon a nemrégiben azonosított PPV8 esetében is összefüggést találtunk a vírusfertőzés és a született malacok száma között. Mivel a PPV8 genetikai szempontból viszonylag közel áll a PPV1-hez és genomját először klinikai tüneteket mutató PRRSV-fertőzött állatokban írták le (Y. Guo és mtsai, 2022), így feltételezhető, hogy szaporodásbiológiai rendellenességek kialakításában is szerepet játszhat. Emellett a feltételezett patogén szerepet az is alátámasztja, hogy a PPV8-fertőzés a hízóállatok napi átlagos testtömeg-gyarapodására is negatív hatással volt.

Az alkalmazott statisztikai modell alapján a többi vizsgált vírus esetében nem találtunk szignifikáns összefüggést a hizlalási és szaporodásbiológiai mutatókkal. Ettől függetlenül elképzelhető, hogy a vírusfertőzéseknek jelentős hatása van egyes paraméterekre és az állomány általános egészségügyi állapotára, hiszen több esetben is a legterheltebb állományokban tapasztaltuk a legrosszabb termelési paramétereket. Mivel azonban munkánk során nem vizsgáltuk egyéb kórokozók jelenlétét, a takarmányozás részleteit, tartástechnológiai jellegzetességeket, természetesen felmerül ezen változók befolyása is.

8.4 Filogenetikai elemzés eredményei

8.4.1 A PCV-k genetikai jellemzői

A PCV2 felfedezése óta az elmúlt évtizedekben újabb és újabb genotípusok alakultak ki és az immunválaszt kikerülve sikeresen elterjedek világszerte, felváltva az addig jellemző típusokat, ami a sertéstartásban bekövetkező változásoknak, illetve a vírus magas evolúciós mutációs rátájának köszönhető (Firth és mtsai, 2009; Franzo, Cortey, és mtsai, 2016). Az első genotípusváltás során a kétezres évek elején az addig jellemző PCV2a genotípust világszerte felváltotta a PCV2b (Grau-Roma és mtsai, 2011; Segalés és mtsai, 2013). Az elmúlt körülbelül 10 évben pedig, feltehetően a széleskörű vakcinázásnak köszönhetően, a PCV2b-t elkezdte felváltani a PCV2d genotípus (Xiao és mtsai, 2015; S. Wang és mtsai, 2020; Franzo, Tinello, és mtsai, 2020; Gainor és mtsai, 2022). Hazánkban a kétezres évek elején vaddisznómintákban vizsgálták a PCV2 előfordulását és genetikai jellemzőit (Cságola és mtsai, 2006), emellett PDNS és PCV2-SD (Dán és mtsai, 2003), továbbá vetéléses esetekben is azonosították a vírusgenomot (Szeredi és mtsai, 2015), amelyek PCV2a, illetve PCV2b genotípusba tartoztak. 2018-ban sikeresen izoláltak egy igen virulens hazai PCV2 törzset, amely már a PCV2d genotípusba tartozott (Palya és mtsai, 2018). Az általunk detektált PCV2 szekvenciák is mind a PCV2d genotípusba tartoznak, amelyre a PCV2b-hez viszonyítva a korai viraemia kialakítása és megnövekedett virulencia jellemző (L. Guo és mtsai, 2012; Opriessnig, Xiao, Gerber, Halbur, és mtsai, 2014). A számos PCV2d genotípusra jellemző aminosav-mutáció közül az egyik legjelentősebb az extra lizin (K) aminosav beépülése a kapszidot alkotó polipeptid végére, amely így jellemzően 234 aminosav hosszúságú (L. Guo és mtsai, 2012). A hazai szekvenciák nukleotidszinten egymással 98% feletti, aminosavszinten 99% feletti egyezést mutatnak, de a többi PCV2d genotípusba tartozó szekvenciával is igen magas szintű homológiát tapasztaltunk. Az egyik szekvenciánk aminosavsorrendje 100%-ban megegyezik a 2018-ban izolált magyarországi törzsszel, de az elemzésünkhöz használt összes szekvenciát összevetve teljes egyezést tapasztaltunk egyes 2010 után leírt ázsiai, európai és amerikai törzsekkel is.

A kapszidfehérjét alkotó aminosavak összehasonlító elemzése során három régiót (53–91, 121–136, 169–217) azonosítottunk, amelyek esetében gyakoriak a mutációk. Hasonló variábilis régiókról számoltak be más kutatások is, amelyek alapján itt találhatóak az ellenanyag-felismeréshez szükséges epitópjai a kapszidfehérjének (Trible és mtsai, 2011; C. Wei és mtsai, 2013; R. Wei és mtsai, 2019). Az itt bekövetkező gyakori mutációk megváltoztathatják a vírus jellemzőit, így elősegítve a virulensebb törzsek elterjedését. Ezeken a régiókon belül összesen nyolc, a PCV2d genotípusra jellemző mutációt azonosítottunk a hazai törzsek esetében. Ezek közül három (F53I, a S121T és a V215I) a kapszidfehérje β -

redőbe rendeződő strukturális részén található, amely annak belső rétegét alkotja (R. Wei és mtsai, 2019). Az itt található aminosavak általában erősen konzerváltak, így az itt bekövetkező mutációk potenciálisan befolyásolhatják a kapszidfehérje struktúrájának stabilitását. Azonban ebben az esetben valószínűtlen, hogy ezek a misszensz mutációk jelentős változást eredményeznének a kapszid szerkezetében, mivel az érintett aminosavak polaritása nem változik.

A mutációk nagy része (Y8F, I57V, R59K, A68N, T134 N, S169G/R) a kapszidfehérje külső részén található, amely a vírus környezettel történő interakciójában játszik szerepet. A kapszidfehérje felső része variábilisabb, míg alsó része konzerváltabb. A felső régióban három, egymáshoz igen közel elhelyezkedő aminosav mutációja figyelhető meg, amely szerkezetbeli változásokat eredményez a különböző genotípusok esetében (R. Wei és mtsai, 2019). A hazai törzseknél ez a három aminosav minden esetben Lys/Ile/Arg (59/206/63), amelyek közül az 59-es aminosav a neutralizáló epitóp része, a 206-os pedig kritikus szerepet játszik az ellenanyag-felismerésben (Khayat és mtsai, 2011; R. Wei és mtsai, 2019). A korábbi PCV2a és PCV2b genotípusokkal összehasonlítva ezek a mutációk arra utalnak, hogy poláris aminosavak (Lys és Arg) kerülnek túlsúlyba a kapszidfehérje ezen régiójában. Ezt a 169-es pozícióban bekövetkező mutáció is alátámasztja, amely szerint helyett a PCV2d genotípus esetében már arginin vagy glicin. A kapszidfehérje STIDYFQPNKR (169–180) oligopeptidjének igen jelentős szerepe van a fertőzés során (Trible és mtsai, 2011). Kísérletesen megfertőzött, illetve PDNS-ben szenvedő természetes úton megfertőződött állatok vizsgálata erős reaktivitást mutatott ki az említett oligopeptiddel szemben és alanin-szkenneléssel beazonosították, hogy az itt elhelyezkedő 173Y, 174F, 175Q és 179K aminosavak fontosak az ellenanyag-felismerés során (Trible és mtsai, 2011). Ezen a szakaszon az általunk detektált szekvenciák mindegyike S169G/R mutációval rendelkezik, míg az 173Y, 174F, 175Q és 179K aminosavak mind megtalálhatóak. A pozitív töltésű aminosavak felhalmozódása a kapszid ezen a területén feltehetőleg elősegíti a vírus hatékonyabb kötődését a negatív töltésű glükózaminoglikán (GAG) receptorokhoz (R. Wei és mtsai, 2019).

A kapszidfehérje külső részén egy nagyobb felületet alkot a 57-es, 68-as és 134-es pozícióban található aminosavak csoportja, ahol jellemző mutációk figyelhetők meg (R. Wei és mtsai, 2019). Ezek az aminosavak a PCV2d esetén Val/Asn/Asn (57/68/134), míg a PCV2a és PCV2b genotípusoknál apoláris alanin (Ala), izoleucin (Ile) és valin (Val) aminosavak. A polaritásbeli változás elősegítheti a hidrogénkötések kialakulását, ami fontos a receptorkötés szempontjából. Hasonlóan a 131-es aminosav, amely kulcsfontosságú a neutralizáló aktivitás szempontjából, a hidrofób izoleucin (Ile) aminosav helyett a PCV2d genotípusokban poláris treonin (Thr) aminosav jelenik meg. A kapszidfehérje alsó része összességben konzerváltabb,

és bár néhány genotípus-specifikus mutációt azonosítottunk, ezek többnyire hasonló biokémiai tulajdonságú aminosavak cseréjével járnak. A saját szekvenciáink esetében ezek a következők: Leu/Asn/Thr (80/77/190), Leu/Thr/Val (80/90/91), Ser/Pro/Leu (86/88/89).

A PCV3 első leírása óta a vírusgenomok klasszifikációjára különféle módszereket javasoltak. Nemrégiben Franzo és munkatársai az összes elérhető teljes PCV3 genom és ORF2 szekvenciák filogenetikai vizsgálatával mindössze két genotípus jelenlétét állapították meg, amelyek közül a PCV3b-be csak két kínai törzs tartozik, az összes többi szekvencia a PCV3a tagja (Franzo, Delwart, és mtsai, 2020). Az általunk meghatározott kilenc magyarországi teljes genomszekvencia mind a PCV3a genotípusba sorolható és igen nagy, 98% feletti egyezést mutatnak a többi ide tartozó vírustörzsszel. Ez a szoros filogenetikai rokonság és a különböző földrajzi eredetű PCV3 szekvenciák nagyfokú homológiája arra utal, hogy a PCV3 evolúciós mutációs rátája jelentősen kisebb, mint a PCV2-é. A retrospektív vizsgálatok által is alátámasztott régóta fennálló víruscirkuláció szintén a vírus nagymértékű genetikai stabilitására enged következtetni (Klaumann és mtsai, 2018; Franzo, He, és mtsai, 2019; Rodrigues és mtsai, 2020).

A PCV2-höz hasonlóan az ORF2 által kódolt kapszidfehérje felelős főleg az immunválasz kiváltásáért a gazdaszervezetekben. Ebből kifolyólag az itt bekövetkező aminosavmutációk vizsgálata segíthet a vírusevolúció megértésében. Az általunk meghatározott szekvenciák vizsgálata során öt aminosavcserét eredményező mutációt találtunk (A24V, R27K, N56S, F104Y, S156T), amelyek közül a 24-es és 27-es pozícióban bekövetkező aminosavcserének más kutatási eredmények is fontos szerepet tulajdonítanak és javasolják genetikai markerként való használatát (Fu és mtsai, 2018; Qi és mtsai, 2019; M. Ge és mtsai, 2021). Kínai minták elemzése során megállapították, hogy 2015 és 2018 között jelentősen megnőtt a A24V mutáns törzsek prevalenciája, amely elérte a közel 50%-ot (Ha, Li, Xie, Li, és mtsai, 2020), két évvel később pedig már majdnem a 90%-ot (M. Ge és mtsai, 2021). A hazai szekvenciák 44%-a (4/9) tartalmazta mind az A24V és a R27K mutációt. Ezek a törzsek mind különböző, egymástól földrajzilag elszigetelt állományokból származnak, három esetben tünetmentes állatoktól vett savómintából, egy esetben pedig klinikai tüneteket mutató, boncolásra beküldött esetből. Ez arra utalhat, hogy ezek a mutációk valószínűleg nem állnak összefüggésben sem a földrajzi elterjedtséggel, sem a vírus patogenitásával. Habár egyes kutatási eredmények alapján a szerzők javasolják ezeknek a mutációknak a genetikai markerként történő használatát és az ORF2 gén alapján több genotípust is elkülönítenek (Qi és mtsai, 2019; Ha, Li, Xie, Yu, és mtsai, 2020; M. Ge és mtsai, 2021), sem az általunk végzett filogenetikai elemzés, sem Franzo és mtsai által leírt besorolási módszer (Franzo, Delwart, és mtsai, 2020) nem támasztja alá, hogy az ORF2 gén használatával a PCV3-törzsek jobban elkülöníthetők. A kritériumok alapján (maximum genotípuson belüli genetikai távolság 3%

teljes genom szekvenciák, 6% ORF2 szekvenciák vizsgálata esetén, 90% feletti bootstrap-érték) csak két kládot lehet megkülönböztetni a filogenetikai fán – akár a teljes genom szekvenciákat, akár a kapszidfehérjét kódoló génszekvenciákat vizsgáljuk. Fontos megjegyezni viszont, hogy a hazai vírustörzsek elrendeződése mindkét filogenetikai fán egyértelműen tükrözi az aminosav-mutációk előfordulását.

8.4.2 A PPV-k genetikai jellemzői

A vizsgált vírusok közül a legrégebben ismert a PPV1, amelynek széleskörű genetikai vizsgálatai során több módszert is alkalmaztak már a vírustörzsek besorolására. A VP1/VP2 és/vagy NS1 szekvenciák alapján egyes kutatások két (Zimmermann és mtsai, 2006), három (Ren és mtsai, 2013), négy (Oh és mtsai, 2017), hat (Cadar és mtsai, 2012) vagy akár hét (Streck és mtsai, 2015) genetikailag elkülönülő kládba sorolták be a leírt szekvenciákat. A közelmúltban viszont kísérletet tettek a klasszifikációs módszerek egységesítésére és egy új besorolási módszert határoztak meg az elérhető ORF2 (VP1) szekvenciák széleskörű vizsgálatával, amely alapján négy genotípus különíthető el (Vereecke és mtsai, 2022). Ezek közül a PPV1a és PPV1b kizárólag európai szekvenciákból áll, a PPV1c és PPV1d pedig változatos eredetű (ázsiai, amerikai és európai) vírustörzseket tartalmaz, azzal a különbséggel, hogy a PPV1c-be főképp az attenuált (pl.: NADL-2), a PPV1d-be pedig a virulens törzsek (pl.: NADL-8) tartoznak.

Az általunk meghatározott magyarországi törzsek a PPV1a, illetve PPV1b genotípusba sorolhatók. A PPV1a genotípus tagja többek közt a virulens 143a típus, a PPV1b genotípusba pedig a szintén igen virulens 27a-szerű vírusok tartoznak. Érdekes módon, két szekvenciánk nem sorolható be pontosan az alkalmazott klasszifikációs módszerrel, mivel átmenetet képeznek a PPV1b és PPV1c genotípus között. Ezek a szekvenciák egy telepről származnak és 100%-os aminosav-homológiát mutatnak egy dániai és egy kínai szekvenciával, ami arra utalhat, hogy ezek a szekvenciák evolúciós átmenetet képezhetnek a főleg ázsiai PPV1c és európai PPV1b genotípusok között. Megemlítenéd, hogy a 2012-ben leírt magyarországi PPV1 szekvenciák is a PPV1c genotípusba tartoznak, ez a vírus evolúciójának eredménye lehet, amelyet az ázsiai és európai törzsek rekombinációja, valamint a vakcinázás nyomása segíthetett elő.

A hazai vírustörzsek elemzése során számos olyan aminosav-mutációt azonosítottunk, amelyek a PPV1a és PPV1b genotípusokra jellemzőek. Ezek a mutációk potenciálisan megváltoztathatják a víruskapszid szerkezetét, így befolyásolva az egyes PPV1-törzsek antigén tulajdonságait. A kapszidfehérje felépítésére jellemző, hogy alegységei a citoplazmában trimerekbe rendeződnek (Riolobos és mtsai, 2006; Boisvert és mtsai, 2014), amely egy kitüremkedést eredményez a háromszoros, és bemélyedést a kétszeres

szimmetriatengelynél (Vereecke és mtsai, 2022). Míg a kitüremkedő régiók a fő fehérjereceptorok és a neutralizáló antitestek kötődési helyei, addig a bemélyedések határozzák meg a szövetspecifitást és az oligoszacharid-felismerést (Vereecke és mtsai, 2022). A PPV1a és PPV1c jellegzetes mutációi főként a trimer alsó régiójában helyezkednek el. Ezzel ellentétben a PPV1b genotípusra jellemző mutációk (Q378E/A564S/E569Q/P586T) a trimer felső régiójában találhatók (Vereecke és mtsai, 2022), amelyek közül a Q378E és a A564S a trimerszerkezet kitüremkedésénél található és fontos ellenanyagkötő helyként szolgál (Kamstrup és mtsai, 1998). Streck és munkatársai nemrég megjelent közleményében is 378-as pozíció körüli aminosavakat, mint egy 27a-szerű neutralizáló epitópot azonosították (Streck és mtsai, 2022). Még közelebbről vizsgálva a fehérje szerkezetét elmondható, hogy az egyes VP2 alegységek a VP1 alternatív splicing-jával jönnek létre és négy felszíni polipeptid hurokkal rendelkeznek, amelyeken előforduló mutációk kiemelt fontosságúak. A PPV1a genotípus jellegzetes aminosav-mutációi jellemzően a teljes kapszidfehérje területén elszórva helyezkednek el, egyetlen kivétel a K557N mutáció, amely a 4-es hurokban található. Ezzel szemben a 27a-szerű PPV1b genotípus esetén három mutáció (A564S/E569Q/P586T) is a 4-es hurkon helyezkedik el, és feltételezhető, hogy hozzájárulnak a genotípus vélhetően fokozottabb virulenciájához.

Az újonnan felfedezett PPV-k filogenetikai elemzését és besorolását egyelőre igen megnehezíti, hogy a legtöbb típus esetében meglehetősen korlátozott a különböző földrajzi eredetű, elérhető teljes genom- illetve NS vagy VP génszekvenciák száma. Minél több diverz szekvencia válik elérhetővé, a genetikai kapcsolatokat annál pontosabban tükröző filogenetikai vizsgálatok kivitelezésére és klasszifikációs módszerek kidolgozására nyílik lehetőség. Mivel a PPV2–PPV8 esetében még nincs egységes besorolási rendszer, így a filogenetikai elemzéshez azokat a géneket határoztuk meg mindegyik vírus esetében, amelyekből a legtöbb különböző eredetű szekvencia volt elérhető a GenBank-ban.

A hazai PPV2-, PPV3- és PPV4-törzsek esetében a kapszidfehérjét kódoló génszekvenciát határoztuk meg. A filogenetikai vizsgálataink azt mutatták, hogy PPV2 és PPV4 két kládba csoportosul, míg a PPV3 esetében a törzsfán három klád különíthető el. A PPV2-vel kapcsolatos hasonló vizsgálatok eddig szintén két elkülönülő csoportot azonosítottak és a PPV2 szekvenciák viszonylag nagyfokú diverzitását állapították meg (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012; Saekhow & Ikeda, 2015; Lagan Tregaskis és mtsai, 2021). A hazai PPV2 szekvenciák az eddig leírtakkal 92%-feletti egyezést mutattak, míg a PPV3-nál és PPV4-nél ezek 97% és 95% feletti értékek. A kapszidfehérjék aminosavsorrendjének vizsgálata során a PPV2 esetében azonosítottuk a legtöbb mutációt, köztük egy aminosav-deléciót. A két kládot összehasonlítva 11 pozíciót és három olyan kevésbé konzervált régiót találtunk, amelyeken belül az egyes aminosav-mutációk jellegzetesek az adott kládokba

tartozó vírustörzsekre. A harmadik régióban leírt három mutációt (I784M, N788S és E796Q) már korábbi tanulmányokban is megállapították és felvetették a lehetőséget filogenetikai markerként való használatukra (Cadar, Cságola, és mtsai, 2013). Továbbá az általunk megállapított jellegzetes mutációk közül két pozíciót is (269, 1010) pozitív szelekciós régióként azonosítottak (Cadar, Cságola, és mtsai, 2013). A PPV3 és PPV4 kapszidszekvenciák aminosavsorrendjének elemzése jelentősen kevesebb variábilis régió, illetve pozíció előfordulását mutatta. A PPV3 esetében a hármas kládra jellemző két mutációt (L332R és V740G), a PPV4 esetében pedig az első kládra jellemző három mutációt (T145S, N370T és I568V) és egy variábilis régiót (454–483) azonosítottunk, amelyeknek szintén fontos szerepe lehet majd a genetikai vizsgálatok során.

Összességében mindhárom PPV esetében megfigyelhető, hogy a kínai szekvenciák sok esetben mindegyik kládon belül megtalálhatóak, míg az európai szekvenciák gyakran csoportosulnak, és különálló klaszterekbe rendeződnek, vagy egymás közelében helyezkednek el a filogenetikai fákban. Fontos megemlíteni, hogy az elérhető szekvenciák között a kínai eredetűek vannak túlsúlyban, ami torzíthatja a filogenetikai mintázatokat. Az általunk újonnan azonosított szekvenciák hasonló csoportosulási mintázatot mutatnak, mint amit több mint egy évtizeddel ezelőtt az akkori magyarországi törzsek első detektálásánál megfigyeltek. Ugyanakkor ezek az új szekvenciák már jelentősen eltérnek a korábban Magyarországon leírtaktól, és inkább az olaszországi, lengyelországi, romániai és szerbiai szekvenciákhoz állnak közelebb. Ez feltehetően a vírusok gyors evolúciós ütemének tudható be, mivel ezek az országok nem számítanak fő élőmalac-exportőröknek Magyarország felé (Balka és mtsai, 2018). Cságola és munkatársai nem találtak különbséget a magyarországi PPV4 kapszidszekvenciák között (Cságola, Lőrincz, és mtsai, 2012). Ezzel szemben munkánk során több nukleotid-, illetve aminosav-különbséget is azonosítottunk a hazai vírustörzsek szekvenciái között, bár a hasonlóságuk még mindig meghaladja a 99%-ot. A PPV2–PPV4 kapszidfehérjét kódoló gének összehasonlításakor továbbra is a PPV4 bizonyul a legkonzervatívabbnak.

A PPV5, PPV6 és PPV7 esetében az NS1, nem strukturális fehérjét kódoló régiókat határoztuk meg. Ennek oka szintén az elérhető szekvenciák korlátozott száma, amelyek túlnyomórészt kínai eredetűek, de néhány amerikai és európai (főleg lengyelországi) szekvencia is hozzáférhető. A filogenetikai elemzések azt mutatják, hogy a vírusgenomok NS1 régiója meglehetősen konzervatív a PPV5 és PPV6 esetében: mindkét vírussal 97% feletti az egyezés a vizsgált szekvenciák nukleotidsorrendje között. Az, hogy a vírusevolúció során ennyire erősen megőrzött maradt az NS1 fehérje arra utal, hogy a vírusreplikációban kulcsszerepet tölt be. Az ilyen nagyfokú szekvenciaegyezés arra is utalhat, hogy ezek a vírusok kevésbé hajlamosak a gyors genetikai változásokra, ami lassabb evolúciós rátát

jelenthet. A PPV5 esetében két amerikai szekvencia elkülönülve alkotta az első kládot, míg az összes többi, igen magas szintű egyezést mutató szekvencia a második kládba tartozott. Továbbá az amerikai vírustörzseknél talált egyedi aminosav-motívumok arra utalhatnak, hogy hasonlóan a PPIV-nél leírtakhoz (Stadejek és mtsai, 2022), az amerikai, illetve európai és ázsiai vírustörzsek eltérő evolúciós útvonalon fejlődtek.

A PPV6 szekvenciák három kládba tömörültek, amelyek közül az első és harmadik csak kínai szekvenciákat tartalmazott, míg a hazai vírustörzsek a különböző eredetű szekvenciákkal együtt a kettes kládon belül csoportosultak. A filogenetikai elemzés során jobban elkülönülő klaszterek arra utalhatnak, hogy a PPV6 genetikai változatossága földrajzi régiók szerint különböző lehet. Az egyetlen azonosított mutáció, amely kizárólag a második kládra jellemző és különösen érdekes lehet, mivel ez a mutáció az európai és amerikai törzsek környezeti vagy immunológiai tényezőkhez való alkalmazkodását jelezheti. Összességében ezek az eredmények arra utalhatnak, hogy bár a PPV5 és PPV6 NS1 régiói viszonylag konzervatívak, regionális különbségek és egyedi evolúciós útvonalak is megfigyelhetők, amelyek befolyásolhatják a vírusok biológiai tulajdonságait és potenciális patogenitását. Ezek a különbségek fontosak lehetnek a vírusok terjedésének megértésében.

A PPV7 esetében négy kládot különítettünk el, amelyek közül a kettes és hármas kládba csoportosultak a hazai törzsek a lengyelországi szekvenciák zömével együtt. Eredményeink alapján kevésbé bizonyult konzerváltnak az NS1 gén, a szekvenciák között 92% feletti egyezést találtunk. Ezt egy kínai tanulmány is alátámasztja, miszerint a többi PPV-hez viszonyítva a PPV7 gyorsabb evolúciós ütemet mutat (D. Wang és mtsai, 2020). Emellett, Milek és munkatársai is hasonlóan magas diverzitást jelentettek a PPV7 NS1 szekvenciák között lengyelországi vírustörzsek vizsgálata esetében (Milek és mtsai, 2018). A replikáció-iniciációs motívumon belül kettő és a helikáz doménon egy aminosav-mutációt találtunk a hazai törzsek esetében, amelyek hatással lehetnek a vírusreplikáció hatékonyságára. Ez a változás pedig nemcsak a vírus terjedési képességét befolyásolhatja, hanem potenciálisan a patogenitását is. A PPV2 és PPV7 esetében megfigyeltük, hogy néhány szekvenciánk szorosabb rokonságot mutat kínai vagy amerikai törzsekkel, mint egymással. Ez arra utalhat, hogy ezek a törzsek különböző genetikai törzsvonalakhoz tartoznak és hosszabb evolúciós történettel rendelkeznek Európában. Összehasonlítva az újonnan leírt PPV-ket elmondható, hogy a PPV2 és PPV7 genetikai változatossága és gyorsabb evolúciós üteme arra utal, hogy ezek a vírusok különösen dinamikusan fejlődhetnek, míg a többi PPV esetében eredményeink lassabb evolúciós ütemet jeleznek.

A magyarországi és szlovákiai PPV8-törzsek filogenetikai elemzése azt mutatta, hogy az összes általunk meghatározott szekvencia az első leírt kínai PPV8-törzsszel csoportosul,

elkülönülve a többi PPV-től. Eredményeink is alátámasztják a szoros genetikai kapcsolatot a PPV1-gyel és a *Protoparvovirus* nemzetségbe tartozó más parvovírusokkal. A részleges VP2 szekvenciák genetikai elemzése magas nukleotid- és aminosav-azonosságot mutatott a kínai referencia-vírustörzsszel összehasonlítva. Mindössze két specifikus aminosav-mutációt találtunk négy magyarországi PPV8-törzs esetében. Azok a sertéstelepek, ahonnan az aminosav-mutációkkal rendelkező törzsek származnak földrajzilag igen közel helyezkednek el egymáshoz az ország dél-nyugati részén. Mivel ezek a misszensz mutációk a kapszidfehérjét érintik, így hatással lehetnek a vírus receptor-kötő és antigén tulajdonságaira. További kutatásokra van szükség a vírus pontos szerkezetének, virulenciájának és a gazdaszervezetre gyakorolt hatásának a meghatározásához.

9 Új tudományos eredmények

1. Elsőként azonosítottuk Magyarországon a PPV5-, PPV6-, PPV7- és PPV8-vírusokat, amelyek közül a PPV8-at Kínán kívül a világon először detektáltuk.
2. Megállapítottuk, hogy a PPV-k szűrésére a 14–18 hetes hízósertések vérsavómintái, míg a PCV-k esetében inkább a 4–6 hetes választott malacok vérsavómintái a legalkalmasabbak. Emellett meghatároztuk, hogy a rágókötélminták megfelelőek a PPV-k szűrésére, míg a herélésifolyadék-minták elsősorban a PCV3 szűrésére alkalmasak. Ezen kívül elsőként mutattuk ki a PPV1–PPV8 vírusokat herélésifolyadék-mintákban.
3. Elsőként határoztuk meg magyarországi PPV5, PPV6 és PPV7 törzsek NS1 fehérjekódoló régióját, a PPV8 részleges kapszidfehérje-kódoló régióját, valamint szlovákiai PPV2- és PPV8-törzsek szekvenciáját. A PPV2–PPV8 esetében elsőként határoztunk meg különböző variábilis régiókat és aminosav-mutációkat, amelyek potenciálisan befolyásolhatják a vírus antigéntulajdonságait.

10 Irodalomjegyzék:

- Afolabi, K. O., Iweriebor, B. C., Obi, L. C., & Okoh, A. I. (2019). Prevalence of porcine parvoviruses in some South African swine herds with background of porcine circovirus type 2 infection. *Acta Tropica*, 190, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.10.010>
- Alarcon, P., Rushton, J., & Wieland, B. (2013). Cost of post-weaning multi-systemic wasting syndrome and porcine circovirus type-2 subclinical infection in England – An economic disease model. *Preventive Veterinary Medicine*, 110(2), 88. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.02.010>
- Alex, C. E., Fahsbender, E., Altan, E., Bildfell, R., Wolff, P., Jin, L., Black, W., Jackson, K., Woods, L., Munk, B., Tse, T., Delwart, E., & Pesavento, P. A. (2020). Viruses in unexplained encephalitis cases in American black bears (*Ursus americanus*). *PLoS ONE*, 15(12), e0244056. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0244056>
- Alex, C. E., Kubiski, S. V., Li, L., Sadeghi, M., Wack, R. F., McCarthy, M. A., Pesavento, J. B., Delwart, E., & Pesavento, P. A. (2018). Amdoparvovirus Infection in Red Pandas (*Ailurus fulgens*). *Veterinary Pathology*, 55(4), 552–561. <https://doi.org/10.1177/0300985818758470>
- Allan, G. M., Kennedy, S., McNeilly, F., Foster, J. C., Ellis, J. A., Krakowka, S. J., Meehan, B. M., & Adair, B. M. (1999). Experimental Reproduction of Severe Wasting Disease by Co-infection of Pigs with Porcine Circovirus and Porcine Parvovirus. *Journal of Comparative Pathology*, 121(1), 1–11. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1998.0295>
- Allan, G. M., Mc Neilly, F., Meehan, B. M., Kennedy, S., Mackie, D. P., Ellis, J. A., Clark, E. G., Espuna, E., Saubi, N., Riera, P., Bøtner, A., & Charreyre, C. E. (1999). Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Veterinary Microbiology*, 66(2), 115–123. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(99\)00004-8](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(99)00004-8)
- Allan, G. M., McNeilly, F., Cassidy, J. P., Reilly, G. A., Adair, B., Ellis, W. A., & McNulty, M. S. (1995). Pathogenesis of porcine circovirus; experimental infections of colostrum deprived piglets and examination of pig foetal material. *Veterinary Microbiology*, 44(1), 49–64. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(94\)00136-k](https://doi.org/10.1016/0378-1135(94)00136-k)
- Allan, G. M., McNeilly, F., Kennedy, S., Daft, B., Clarke, E. G., Ellis, J. A., Haines, D. M., Meehan, B. M., & Adair, B. M. (1998). Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 10(1), 3–10. <https://doi.org/10.1177/104063879801000102>
- Alomar, J., Saporiti, V., Pérez, M., Gonçalves, D., Sibila, M., & Segalés, J. (2021). Multisystemic lymphoplasmacytic inflammation associated with PCV-3 in wasting pigs. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2969–2974. <https://doi.org/10.1111/tbed.14260>
- Appel, M. J., Scott, F. W., & Carmichael, L. E. (1979). Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *The Veterinary Record*, 105(8), 156–159. <https://doi.org/10.1136/vr.105.8.156>
- Arruda, B., Piñeyro, P., Derscheid, R., Hause, B., Byers, E., Dion, K., Long, D., Sievers, C., Tangen, J., Williams, T., & Schwartz, K. (2019). PCV3-associated disease in the United States swine herd. *Emerging Microbes & Infections*, 8(1), 684–698. <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1613176>
- Balka, G., Dreckmann, K., Papp, G., & Kraft, C. (2016). Vaccination of piglets at 2 and 3 weeks of age with Ingelvac PRRSFLEX® EU provides protection against heterologous field challenge in the face of homologous maternally derived antibodies. *Porcine Health Management*, 2(1), 24. <https://doi.org/10.1186/s40813-016-0037-y>
- Balka, G., Podgórska, K., Brar, M. S., Bálint, Á., Cadar, D., Celer, V., Dénes, L., Dirbakova, Z., Jedryczko, A., Márton, L., Novosel, D., Petrović, T., Sirakov, I., Szalay, D., Toplak, I., Leung, F. C.-C., & Stadejek, T. (2018). Genetic diversity of PRRSV 1 in Central Eastern

- Europe in 1994–2014: Origin and evolution of the virus in the region. *Scientific Reports*, 8(1), 7811. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26036-w>
- 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(1–2), 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.006>
- Bergeron, J., Hébert, B., & Tijssen, P. (1996). Genome organization of the Kresse strain of porcine parvovirus: Identification of the allotropic determinant and comparison with those of NADL-2 and field isolates. *Journal of Virology*, 70(4), 2508–2515.
- Bergeron, J., Menezes, J., & Tijssen, P. (1993). Genomic Organization and Mapping of Transcription and Translation Products of the NADL-2 Strain of Porcine Parvovirus. *Virology*, 197(1), 86–98. <https://doi.org/10.1006/viro.1993.1569>
- Bisimwa, P. N., Wasso, D. S., Bantuzeko, F., Aksanti, C. B., Tonui, R., Birindwa, A. B., & Bisimwa, E. B. (2021). First investigation on the presence of porcine parvovirus type 3 in domestic pig farms without reproductive failure in the Democratic Republic of Congo. *Veterinary and Animal Science*, 13, 100187. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2021.100187>
- Blinkova, O., Victoria, J., Li, Y., Keele, B. F., Sanz, C., Ndjanga, J.-B. N., Peeters, M., Travis, D., Lonsdorf, E. V., Wilson, M. L., Pusey, A. E., Hahn, B. H., & Delwart, E. L. (2010). Novel circular DNA viruses in stool samples of wild-living chimpanzees. *The Journal of General Virology*, 91(Pt 1), 74–86. <https://doi.org/10.1099/vir.0.015446-0>
- Blunt, R., McOrist, S., McKillen, J., McNair, I., Jiang, T., & Mellits, K. (2011). House fly vector for porcine circovirus 2b on commercial pig farms. *Veterinary Microbiology*, 149(3–4), 452–455. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.11.019>
- Boisvert, M., Bouchard-Lévesque, V., Fernandes, S., & Tijssen, P. (2014). Classic nuclear localization signals and a novel nuclear localization motif are required for nuclear transport of porcine parvovirus capsid proteins. *Journal of Virology*, 88(20), 11748–11759. <https://doi.org/10.1128/JVI.01717-14>
- Boudry, G., Péron, V., Le Huërou-Luron, I., Lallès, J. P., & Sève, B. (2004). Weaning Induces Both Transient and Long-Lasting Modifications of Absorptive, Secretory, and Barrier Properties of Piglet Intestine. *The Journal of Nutrition*, 134(9), 2256–2262. <https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2256>
- Cadar, D., Cságola, A., Kiss, T., & Tuboly, T. (2013). Capsid protein evolution and comparative phylogeny of novel porcine parvoviruses. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 66(1), 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.09.030>
- Cadar, D., Dán, Á., Tombácz, K., Lőrincz, M., Kiss, T., Becskei, Z., Spînu, M., Tuboly, T., & Cságola, A. (2012). Phylogeny and evolutionary genetics of porcine parvovirus in wild boars. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 12(6), 1163–1171. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.020>
- Cadar, D., Lőrincz, M., Kiss, T., Novosel, D., Podgorska, K., Becskei, Z., Tuboly, T., & Cságola, A. (2013). Emerging novel porcine parvoviruses in Europe: Origin, evolution, phylodynamics and phylogeography. *The Journal of General Virology*, 94(Pt 10), 2330–2337. <https://doi.org/10.1099/vir.0.055129-0>
- Campbell, J. M., Crenshaw, J. D., & Polo, J. (2013). The biological stress of early weaned piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 4(1), 19. <https://doi.org/10.1186/2049-1891-4-19>
- Cao, L., Sun, W., Lu, H., Tian, M., Xie, C., Zhao, G., Han, J., Wang, W., Zheng, M., Du, R., Jin, N., & Qian, A. (2018). Genetic variation analysis of PCV1 strains isolated from Guangxi Province of China in 2015. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1345-z>
- Capozza, P., Lanave, G., Diakoudi, G., Pellegrini, F., Cardone, R., Vasinioti, V. I., Decaro, N., Elia, G., Catella, C., Alberti, A., Bányai, K., Mendoza-Roldan, J. A., Otranto, D., Buonavoglia, C., & Martella, V. (2022). Diversity of CRESS DNA Viruses in Squamates Recapitulates Hosts Dietary and Environmental Sources of Exposure. *Microbiology Spectrum*, 10(3), e0078022. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00780-22>

- Cartwright, S. F., Lucas, M., & Huck, R. A. (1969). A small haemagglutinating porcine DNA virus: I. Isolation and properties. *Journal of Comparative Pathology*, 79(3), 371–377. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(69\)90053-X](https://doi.org/10.1016/0021-9975(69)90053-X)
- Chang'a, J. S., Bitanyi, S. S., Kamigwe, A., Magidanga, B., Guo, S., Makoroma, P., Francis, G., Jumbe, J., Jeremiah, M., Nyakilinga, D., Mwasha, M., Msangi, K., Cattoli, G., Franzo, G., Molini, U., & Dundon, W. G. (2023). Molecular characterization of porcine circovirus-2 and -3 in pigs in Tanzania. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 85(6), 691–694. <https://doi.org/10.1292/jvms.23-0031>
- Chen, G. H., Mai, K. J., Zhou, L., Wu, R. T., Tang, X. Y., Wu, J. L., He, L. L., Lan, T., Xie, Q. M., Sun, Y., & Ma, J. Y. (2017). Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(6), 1650–1654. <https://doi.org/10.1111/tbed.12702>
- Chen, S., Zhang, L., Li, X., Niu, G., & Ren, L. (2021). Recent Progress on Epidemiology and Pathobiology of Porcine Circovirus 3. *Viruses*, 13(10), 1944. <https://doi.org/10.3390/v13101944>
- Chen, X.-M., Zhao, Y.-Y., Liu, X.-C., Han, Y.-Y., Zhang, Y.-H., Hou, C.-Y., Zheng, L.-L., Ma, S.-J., & Chen, H.-Y. (2023). Molecular detection and genetic characteristics of a novel porcine circovirus (porcine circovirus 4) and porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Shaanxi and Henan Provinces of China. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 98, 102009. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2023.102009>
- Cheung, A. K. (2012). Porcine circovirus: Transcription and DNA replication. *Virus Research*, 164(1–2), 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.012>
- Cheung, A. K., Wu, G., Wang, D., Bayles, D. O., Lager, K. M., & Vincent, A. L. (2010). Identification and molecular cloning of a novel porcine parvovirus. *Archives of Virology*, 155(5), 801–806. <https://doi.org/10.1007/s00705-010-0646-8>
- Chung, H.-C., Nguyen, V.-G., Huynh, T.-M.-L., Park, Y.-H., Park, K.-T., & Park, B.-K. (2020). PCR-based detection and genetic characterization of porcine parvoviruses in South Korea in 2018. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 113. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02329-z>
- Chung, W.-B., Lin, M.-W., Chang, W.-F., Hsu, M., & Yang, P.-C. (1997). Persistence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in Intensive Farrow-to-Finish Pig Herds. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne de Recherche Veterinaire*, 61(4), 292–298.
- Cortey, M., Pileri, E., Sibila, M., Pujols, J., Balasch, M., Plana, J., & Segalés, J. (2011). Genotypic shift of porcine circovirus type 2 from PCV-2a to PCV-2b in Spain from 1985 to 2008. *The Veterinary Journal*, 187(3), 363–368. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.12.023>
- Cotmore, S. F., Agbandje-McKenna, M., Canuti, M., Chiorini, J. A., Eis-Hubinger, A.-M., Hughes, J., Mietzsch, M., Modha, S., Ogliastro, M., Péntzes, J. J., Pintel, D. J., Qiu, J., Soderlund-Venermo, M., Tattersall, P., Tijssen, P., & ICTV Report Consortium. (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: Parvoviridae. *Journal of General Virology*, 100(3), 367–368. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001212>
- Cotmore, S. F., & Tattersall, P. (2014). Parvoviruses: Small Does Not Mean Simple. *Annual Review of Virology*, 1(1), 517–537. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-031413-085444>
- Cui, J., Biernacka, K., Fan, J., Gerber, P. F., Stadejek, T., & Opriessnig, T. (2017). Circulation of Porcine Parvovirus Types 1 through 6 in Serum Samples Obtained from Six Commercial Polish Pig Farms. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(6), 1945–1952. <https://doi.org/10.1111/tbed.12593>
- Cui, J., Fan, J., Gerber, P. F., Biernacka, K., Stadejek, T., Xiao, C.-T., & Opriessnig, T. (2017). First identification of porcine parvovirus 6 in Poland. *Virus Genes*, 53(1), 100–104. <https://doi.org/10.1007/s11262-016-1386-y>

- Cságola, A., Kecskeméti, S., Kardos, G., Kiss, I., & Tuboly, T. (2006). Genetic characterization of type 2 porcine circoviruses detected in Hungarian wild boars. *Archives of Virology*, 151(3), 495–507. <https://doi.org/10.1007/s00705-005-0639-1>
- Cságola, A., Kiss, I., & Tuboly, T. (2008). Detection and analysis of porcine circovirus type 1 in Hungarian wild boars: Short communication. *Acta Veterinaria Hungarica*, 56(1), 139–144. <https://doi.org/10.1556/AVet.56.2008.1.15>
- Cságola, A., Lorincz, M., Tombácz, K., Wladár, Z., Kovács, E., & Tuboly, T. (2012). Genetic diversity of pigeon circovirus in Hungary. *Virus Genes*, 44(1), 75–79. <https://doi.org/10.1007/s11262-011-0669-6>
- Cságola, A., Lőrincz, M., Cadar, D., Tombácz, K., Biksi, I., & Tuboly, T. (2012). Detection, prevalence and analysis of emerging porcine parvovirus infections. *Archives of Virology*, 157(6), 1003–1010. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1257-3>
- Cságola, A., Zádori, Z., Mészáros, I., & Tuboly, T. (2016). Detection of Porcine Parvovirus 2 (Ungulate Tetraparvovirus 3) Specific Antibodies and Examination of the Serological Profile of an Infected Swine Herd. *PloS One*, 11(3), e0151036. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151036>
- Dal Santo, A. C., Cezario, K. C., Bennemann, P. E., Machado, S. A., & Martins, M. (2020). Full-genome sequences of porcine circovirus 3 (PCV3) and high prevalence in mummified fetuses from commercial farms in Brazil. *Microbial Pathogenesis*, 141, 104027. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104027>
- Dán, A., Molnár, T., Biksi, I., Glávits, R., Shaheim, M., & Harrach, B. (2003). Characterisation of Hungarian porcine circovirus 2 genomes associated with PMWS and PDNS cases. *Acta Veterinaria Hungarica*, 51(4), 551–562. <https://doi.org/10.1556/AVet.51.2003.4.13>
- Darwich, L., Segalés, J., & Mateu, E. (2004). Pathogenesis of postweaning multisystemic wasting syndrome caused by Porcine circovirus 2: An immune riddle. *Archives of Virology*, 149(5), 857–874. <https://doi.org/10.1007/s00705-003-0280-9>
- Dei Giudici, S., Franzoni, G., Bonelli, P., Angioi, P. P., Zinellu, S., Deriu, V., Carta, T., Sechi, A. M., Salis, F., Balzano, F., & Oggiano, A. (2020). Genetic Characterization of Porcine Circovirus 3 Strains Circulating in Sardinian Pigs and Wild Boars. *Pathogens*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050344>
- Dei Giudici, S., Lo Presti, A., Bonelli, P., Angioi, P. P., Sanna, G., Zinellu, S., Balzano, F., Salis, F., Ciccozzi, M., & Oggiano, A. (2019). Phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 in Sardinia, Italy, shows genotype 2d circulation among domestic pigs and wild boars. *Infection, Genetics and Evolution*, 71, 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.03.013>
- Deim, Z., Dencső, L., Erdélyi, I., Valappil, S. K., 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(3), 84–84. <https://doi.org/10.1136/vr.104784>
- Dénes, L., Ruedas-Torres, I., Szilasi, A., & Balka, G. (2022). Detection and localization of atypical porcine pestivirus in the testicles of naturally infected, congenital tremor affected piglets. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4), e621–e629. <https://doi.org/10.1111/tbed.14355>
- Derzsy, D. (1967). A viral disease of goslings. I. Epidemiological, clinical, pathological and aetiological studies. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 17(4), 443–448.
- Dhandapani, G., Yoon, S.-W., Noh, J. Y., Jang, S. S., Kim, M. C., Lim, H. A., Choi, Y. G., Jeong, D. G., & Kim, H. K. (2021). Detection of bat-associated circoviruses in Korean bats. *Archives of Virology*, 166(11), 3013–3021. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05202-y>
- Divers, T. J., Tennant, B. C., Kumar, A., McDonough, S., Cullen, J., Bhuva, N., Jain, K., Chauhan, L. S., Scheel, T. K. H., Lipkin, W. I., Laverack, M., Trivedi, S., Srinivasa, S., Beard, L., Rice, C. M., Burbelo, P. D., Renshaw, R. W., Dubovi, E., & Kapoor, A. (2018). New Parvovirus Associated with Serum Hepatitis in Horses after Inoculation of

- Common Biological Product. *Emerging Infectious Diseases*, 24(2), 303–310. <https://doi.org/10.3201/eid2402.171031>
- Duffy, S., Shackelton, L. A., & Holmes, E. C. (2008). Rates of evolutionary change in viruses: Patterns and determinants. *Nature Reviews Genetics*, 9(4), 267–276. <https://doi.org/10.1038/nrg2323>
- Eddicks, M., Maurer, R., Deffner, P., Eddicks, L., Sipos, W., Reese, S., Cvjetković, V., Krejci, R., Opriessnig, T., Ritzmann, M., & Fux, R. (2022). Cross-Sectional Study on the Prevalence of PCV Types 2 and 3 DNA in Suckling Piglets Compared to Grow–Finish Pigs in Downstream Production. *Pathogens*, 11(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060671>
- Ellis, J. (2014). Porcine Circovirus: A Historical Perspective. *Veterinary Pathology*, 51(2), 315–327. <https://doi.org/10.1177/0300985814521245>
- Ellis, J. A., Bratanich, A., Clark, E. G., Allan, G., Meehan, B., Haines, D. M., Harding, J., West, K. H., Krakowka, S., Konoby, C., Hassard, L., Martin, K., & McNeilly, F. (2000). Coinfection by porcine circoviruses and porcine parvovirus in pigs with naturally acquired postweaning multisystemic wasting syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 12(1), 21–27. <https://doi.org/10.1177/104063870001200104>
- Ellis, J., Hassard, L., Clark, E., Harding, J., Allan, G., Willson, P., Strokappe, J., Martin, K., McNeilly, F., Meehan, B., Todd, D., & Haines, D. (1998). Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 39(1), 44–51.
- Faccini, S., Barbieri, I., Gilioli, A., Sala, G., Gibelli, L. R., Moreno, A., Sacchi, C., Rosignoli, C., Franzini, G., & Nigrelli, A. (2017). Detection and genetic characterization of Porcine circovirus type 3 in Italy. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(6), 1661–1664. <https://doi.org/10.1111/tbed.12714>
- Faustini, G., Tucciarone, C. M., Franzo, G., Donneschi, A., Boniotti, M. B., Alborali, G. L., & Drigo, M. (2024). Molecular Survey on Porcine Parvoviruses (PPV1-7) and Their Association with Major Pathogens in Reproductive Failure Outbreaks in Northern Italy. *Viruses*, 16(1), 157. <https://doi.org/10.3390/v16010157>
- Fehér, E., Jakab, F., & Bányai, K. (2023). Mechanisms of circovirus immunosuppression and pathogenesis with a focus on porcine circovirus 2: A review. *Veterinary Quarterly*, 43(1), 1–18. <https://doi.org/10.1080/01652176.2023.2234430>
- Firth, C., Charleston, M. A., Duffy, S., Shapiro, B., & Holmes, E. C. (2009). Insights into the Evolutionary History of an Emerging Livestock Pathogen: Porcine Circovirus 2. *Journal of Virology*, 83(24), 12813–12821. <https://doi.org/10.1128/jvi.01719-09>
- Foerster, T., Streck, A. F., Speck, S., Selbitz, H.-J., Lindner, T., & Truyen, U. (2016). An inactivated whole-virus porcine parvovirus vaccine protects pigs against disease but does not prevent virus shedding even after homologous virus challenge. *The Journal of General Virology*, 97(6), 1408–1413. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000446>
- Fogell, D. J., Martin, R. O., & Groombridge, J. J. (2016). Beak and feather disease virus in wild and captive parrots: An analysis of geographic and taxonomic distribution and methodological trends. *Archives of Virology*, 161(8), 2059–2074. <https://doi.org/10.1007/s00705-016-2871-2>
- Franzo, G., Cortey, M., de Castro, A. M. M. G., Piovezan, U., Szabo, M. P. J., Drigo, M., Segalés, J., & Richtzenhain, L. J. (2015). Genetic characterisation of Porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from feral pigs in the Brazilian Pantanal: An opportunity to reconstruct the history of PCV2 evolution. *Veterinary Microbiology*, 178(1–2), 158–162. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.003>
- Franzo, G., Cortey, M., Segalés, J., Hughes, J., & Drigo, M. (2016). Phylodynamic analysis of porcine circovirus type 2 reveals global waves of emerging genotypes and the circulation of recombinant forms. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 100, 269–280. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.04.028>

- Franzo, G., Delwart, E., Fux, R., Hause, B., Su, S., Zhou, J., & Segalés, J. (2020). Genotyping Porcine Circovirus 3 (PCV-3) Nowadays: Does It Make Sense? *Viruses*, 12(3), 265. <https://doi.org/10.3390/v12030265>
- Franzo, G., Grassi, L., Tucciarone, C. M., Drigo, M., Martini, M., Pasotto, D., Mondin, A., & Menandro, M. L. (2019). A wild circulation: High presence of *Porcine circovirus 3* in different mammalian wild hosts and ticks. *Transboundary and Emerging Diseases*, tbed.13180. <https://doi.org/10.1111/tbed.13180>
- Franzo, G., He, W., Correa-Fiz, F., Li, G., Legnardi, M., Su, S., & Segalés, J. (2019). A Shift in Porcine Circovirus 3 (PCV-3) History Paradigm: Phylodynamic Analyses Reveal an Ancient Origin and Prolonged Undetected Circulation in the Worldwide Swine Population. *Advanced Science (Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany)*, 6(22), 1901004. <https://doi.org/10.1002/advs.201901004>
- Franzo, G., Kekarainen, T., Llorens, A., Correa-Fiz, F., & Segalés, J. (2019). Exploratory metagenomic analyses of periweaning failure-to-thrive syndrome-affected pigs. *The Veterinary Record*, 184(1), 25. <https://doi.org/10.1136/vr.105125>
- Franzo, G., Legnardi, M., Centelleghé, C., Tucciarone, C. M., Cecchinato, M., Cortey, M., Segalés, J., & Drigo, M. (2018). Development and validation of direct PCR and quantitative PCR assays for the rapid, sensitive, and economical detection of porcine circovirus 3. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 30(4), 538–544. <https://doi.org/10.1177/1040638718770495>
- Franzo, G., Legnardi, M., Hjulsgaard, C. K., Klaumann, F., Larsen, L. E., Segalés, J., & Drigo, M. (2018). Full-genome sequencing of porcine circovirus 3 field strains from Denmark, Italy and Spain demonstrates a high within-Europe genetic heterogeneity. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(3), 602–606. <https://doi.org/10.1111/tbed.12836>
- Franzo, G., Legnardi, M., Tucciarone, C. M., Drigo, M., Klaumann, F., Sohrmann, M., & Segalés, J. (2018). Porcine circovirus type 3: A threat to the pig industry? *Veterinary Record*, 182(3), 83–83. <https://doi.org/10.1136/vr.k91>
- Franzo, G., & Segalés, J. (2018). Porcine circovirus 2 (PCV-2) genotype update and proposal of a new genotyping methodology. *PLOS ONE*, 13(12), e0208585. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208585>
- Franzo, G., & Segalés, J. (2020). Porcine Circovirus 2 Genotypes, Immunity and Vaccines: Multiple Genotypes but One Single Serotype. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(12), 1049. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121049>
- Franzo, G., Tinello, S., Grassi, L., Tucciarone, C. M., Legnardi, M., Cecchinato, M., Dotto, G., Mondin, A., Martini, M., Pasotto, D., Menandro, M. L., & Drigo, M. (2020). Free to Circulate: An Update on the Epidemiological Dynamics of Porcine Circovirus 2 (PCV-2) in Italy Reveals the Role of Local Spreading, Wild Populations, and Foreign Countries. *Pathogens*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030221>
- Franzo, G., Tucciarone, C. M., Cecchinato, M., & Drigo, M. (2016). Porcine circovirus type 2 (PCV2) evolution before and after the vaccination introduction: A large scale epidemiological study. *Scientific Reports*, 6(1), 39458. <https://doi.org/10.1038/srep39458>
- Fu, X., Fang, B., Ma, J., Liu, Y., Bu, D., Zhou, P., Wang, H., Jia, K., & Zhang, G. (2018). Insights into the epidemic characteristics and evolutionary history of the novel porcine circovirus type 3 in southern China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(2), e296–e303. <https://doi.org/10.1111/tbed.12752>
- Fux, R., Söckler, C., Link, E. K., Renken, C., Krejci, R., Sutter, G., Ritzmann, M., & Eddicks, M. (2018). Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of two distinct groups of virus strains. *Virology Journal*, 15, 25. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-0929-3>
- Gainor, K., Castillo Fortuna, Y., Alakkaparambil, A. S., González, W., Malik, Y. S., & Ghosh, S. (2022). Detection and Complete Genome Analysis of Porcine Circovirus 2 (PCV2) and an Unclassified CRESS DNA Virus from Diarrheic Pigs in the Dominican Republic: First

- Evidence for Predominance of PCV2d from the Caribbean Region. *Viruses*, 14(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/v14081799>
- Garcia-Camacho, L. A., Vargas-Ruiz, A., Marin-Flamand, E., Ramírez-Álvarez, H., & Brown, C. (2020). A retrospective study of DNA prevalence of porcine parvoviruses in Mexico and its relationship with porcine circovirus associated disease. *Microbiology and Immunology*, 64(5), 366–376. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12782>
- Garcia-Morante, B., Noguera, M., Klocke, S., Sommer, K., & Bridger, P. (2020). Duration of immunity against heterologous porcine parvovirus 1 challenge in gilts immunized with a novel subunit vaccine based on the viral protein 2. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 184. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02394-4>
- Garkavenko, O., Elliott, R. B., & Croxson, M. C. (2005). Identification of pig circovirus type 2 in New Zealand pigs. *Transplantation Proceedings*, 37(1), 506–509. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.12.301>
- Gava, D., Souza, C. K., Schaefer, R., Vincent, A. L., Cantão, M. E., Coldebella, A., & Ciacci-Zanella, J. R. (2015). A TaqMan-based real-time PCR for detection and quantification of porcine parvovirus 4. *Journal of Virological Methods*, 219, 14–17. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.03.011>
- Ge, M., Ren, J., Xie, Y.-L., Zhao, D., Fan, F.-C., Song, X.-Q., Li, M.-X., & Xiao, C.-T. (2021). Prevalence and Genetic Analysis of Porcine Circovirus 3 in China From 2019 to 2020. *Frontiers in Veterinary Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.773912>
- Ge, X., Li, J., Peng, C., Wu, L., Yang, X., Wu, Y., Zhang, Y., & Shi, Z. (2011). Genetic diversity of novel circular ssDNA viruses in bats in China. *Journal of General Virology*, 92(11), 2646–2653. <https://doi.org/10.1099/vir.0.034108-0>
- Grau-Roma, L., Fraile, L., & Segalés, J. (2011). Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 187(1), 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.01.018>
- Grau-Roma, L., Hjulsager, C. K., Sibila, M., Kristensen, C. S., López-Soria, S., Enøe, C., Casal, J., Bøtner, A., Nofrarías, M., Bille-Hansen, V., Fraile, L., Baekbo, P., Segalés, J., & Larsen, L. E. (2009). Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Veterinary Microbiology*, 135(3–4), 272–282. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.007>
- Guo, J., Hou, L., Zhou, J., Wang, D., Cui, Y., Feng, X., & Liu, J. (2022). Porcine Circovirus Type 2 Vaccines: Commercial Application and Research Advances. *Viruses*, 14(9), 2005. <https://doi.org/10.3390/v14092005>
- Guo, L., Fu, Y., Wang, Y., Lu, Y., Wei, Y., Tang, Q., Fan, P., Liu, J., Zhang, L., Zhang, F., Huang, L., Liu, D., Li, S., Wu, H., & Liu, C. (2012). A porcine circovirus type 2 (PCV2) mutant with 234 amino acids in capsid protein showed more virulence in vivo, compared with classical PCV2a/b strain. *PloS One*, 7(7), e41463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041463>
- Guo, Y., Yan, G., Chen, S., Han, H., Li, J., Zhang, H., Luo, S., Liu, M., Wu, Q., Li, Q., Tu, C., Huang, L., & Gong, W. (2022). Identification and genomic characterization of a novel porcine parvovirus in China. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1009103. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1009103>
- Guo, Z., Li, X., Deng, R., & Zhang, G. (2019). Detection and genetic characteristics of porcine circovirus 3 based on oral fluids from asymptomatic pigs in central China. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 200. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1952-3>
- Ha, Z., Li, J., Xie, C., Yu, C., Hao, P., Zhang, Y., Xu, W., Nan, F., Xie, Y., Li, Y., Rong, F., Wang, G., Guo, Y., Lu, H., & Jin, N. (2020). Prevalence, pathogenesis, and evolution of porcine circovirus type 3 in China from 2016 to 2019. *Veterinary Microbiology*, 247, 108756. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108756>
- 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>
- Halami, M. Y., Freick, M., Shehata, A. A., Müller, H., & Vahlenkamp, T. W. (2014). Susceptibility of calves to porcine circovirus-2 (PCV2). *Veterinary Microbiology*, 173(1), 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.022>
- Han, H.-Y., Zheng, H.-H., Zhao, Y., Tian, R.-B., Xu, P.-L., Hou, H.-L., Chen, H.-Y., & Yang, M.-F. (2019). Development of a SYBR green I-based duplex real-time fluorescence quantitative PCR assay for the simultaneous detection of porcine epidemic diarrhea virus and porcine circovirus 3. *Molecular and Cellular Probes*, 44, 44–50. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.02.002>
- Harms, P. A., Sorden, S. D., Halbur, P. G., Bolin, S. R., Lager, K. M., Morozov, I., & Paul, P. S. (2001). Experimental reproduction of severe disease in CD/CD pigs concurrently infected with type 2 porcine circovirus and porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Veterinary Pathology*, 38(5), 528–539. <https://doi.org/10.1354/vp.38-5-528>
- Hayashi, S., Ohshima, Y., Furuya, Y., Nagao, A., Oroku, K., Tsutsumi, N., Sasakawa, C., & Sato, T. (2018). First detection of porcine circovirus type 3 in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(9), 1468–1472. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0079>
- He, J., Cao, J., Zhou, N., Jin, Y., Wu, J., & Zhou, J. (2013). Identification and functional analysis of the novel ORF4 protein encoded by porcine circovirus type 2. *Journal of Virology*, 87(3), 1420–1429. <https://doi.org/10.1128/JVI.01443-12>
- Herbst, W., & Willems, H. (2017). Detection of virus particles resembling circovirus and porcine circovirus 2a (PCV2a) sequences in feces of dogs. *Research in Veterinary Science*, 115, 51–53. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.01.014>
- Hijikata, W., Abe, K., Wim, K., Shimizu, Y., Keicho, N., & Yoshikura, H. (2001). Identification of new parvovirus DNA sequence in swine sera from Myanmar. *Jpn J Infect Dis.*, 54(6).
- Holgado-Martín, R., Arnal, J. L., Sibila, M., Franzo, G., Martín-Jurado, D., Risco, D., Segalés, J., & Gómez, L. (2023). First detection of porcine circovirus 4 (PCV-4) in Europe. *Virology Journal*, 20(1), 230. <https://doi.org/10.1186/s12985-023-02181-1>
- Horlen, K. P., Dritz, S. S., Niefeld, J. C., Henry, S. C., Hesse, R. A., Oberst, R., Hays, M., Anderson, J., & Rowland, R. R. R. (2008). A field evaluation of mortality rate and growth performance in pigs vaccinated against porcine circovirus type 2. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(6), 906–912. <https://doi.org/10.2460/javma.232.6.906>
- Hou, C.-Y., Zhang, L.-H., Zhang, Y.-H., Cui, J.-T., Zhao, L., Zheng, L.-L., & Chen, H.-Y. (2022). Phylogenetic analysis of porcine circovirus 4 in Henan Province of China: A retrospective study from 2011 to 2021. *Transboundary and Emerging Diseases*, 69(4), 1890–1901. <https://doi.org/10.1111/tbed.14172>
- Huang, L. P., Lu, Y. H., Wei, Y. W., Guo, L. J., & Liu, C. M. (2011). Identification of one critical amino acid that determines a conformational neutralizing epitope in the capsid protein of porcine circovirus type 2. *BMC Microbiology*, 11, 188. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-188>
- Huang, L., Zhai, S.-L., Cheung, A. K., Zhang, H.-B., Long, J.-X., & Yuan, S.-S. (2010). Detection of a novel porcine parvovirus, PPV4, in chinese swine herds. *Virology Journal*, 7(1), 333. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-7-333>
- Jacobsen, B., Krueger, L., Seeliger, F., Bruegmann, M., Segalés, J., & Baumgaertner, W. (2009). Retrospective study on the occurrence of porcine circovirus 2 infection and associated entities in Northern Germany. *Veterinary Microbiology*, 138(1–2), 27–33. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.02.005>
- Jiang, S., Zhou, N., Li, Y., An, J., & Chang, T. (2019). Detection and sequencing of porcine circovirus 3 in commercially sourced laboratory mice. *Veterinary Medicine and Science*, 5(2), 176–181. <https://doi.org/10.1002/vms3.144>
- Johnson, R. H., Donaldson-Wood, C., & Allender, U. (1976). Observations on the epidemiology of porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal*, 52(2), 80–84. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1976.tb13862.x>

- Joo, H. S., & Johnson, R. H. (1977). Serological responses in pigs vaccinated with inactivated porcine parvovirus. *Australian Veterinary Journal*, 53(11), 550–552. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1977.tb07945.x>
- Jóźwik, A., Manteufel, J., Selbitz, H.-J., & Truyen, U. (2009). Vaccination against porcine parvovirus protects against disease, but does not prevent infection and virus shedding after challenge infection with a heterologous virus strain. *The Journal of General Virology*, 90(Pt 10). <https://doi.org/10.1099/vir.0.012054-0>
- Kamstrup, S., Langeveld, J., Bøtner, A., Nielsen, J., Schaaper, W. M. M., Boshuizen, R. S., Casal, J. I., Højrup, P., Vela, C., Meloen, R., & Dalsgaard, K. (1998). Mapping the antigenic structure of porcine parvovirus at the level of peptides. *Virus Research*, 53(2), 163–173. [https://doi.org/10.1016/S0168-1702\(97\)00145-7](https://doi.org/10.1016/S0168-1702(97)00145-7)
- Kang, W., Zi, Z., Cao, Z., Zhai, X., & Cai, X. (2014). Identification and genomic characterization of a novel porcine parvovirus (PPV6) in China. *Virology Journal*, 11, 203. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0203-2>
- Kapoor, A., Dubovi, E. J., Henriquez-Rivera, J. A., & Lipkin, W. I. (2012). Complete genome sequence of the first canine circovirus. *Journal of Virology*, 86(12), 7018. <https://doi.org/10.1128/JVI.00791-12>
- Katoh, K., & Toh, H. (2008). Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT-based framework. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 212. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-212>
- Kazlauskas, D., Varsani, A., Koonin, E. V., & Krupovic, M. (2019). Multiple origins of prokaryotic and eukaryotic single-stranded DNA viruses from bacterial and archaeal plasmids. *Nature Communications*, 10, 3425. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11433-0>
- Kedkovid, R., Woonwong, Y., Arunorat, J., Sirisereewan, C., Sangpratum, N., Kesdangsakonwut, S., Tummaruk, P., Teankum, K., Assavacheep, P., Jittimanee, 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>
- Khayat, R., Brunn, N., Speir, J. A., Hardham, J. M., Ankenbauer, R. G., Schneemann, A., & Johnson, J. E. (2011). The 2.3-angstrom structure of porcine circovirus 2. *Journal of Virology*, 85(15), 7856–7862. <https://doi.org/10.1128/JVI.00737-11>
- Kim, J., Chung, H.-K., & Chae, C. (2003). Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 166(3), 251–256. [https://doi.org/10.1016/s1090-0233\(02\)00257-5](https://doi.org/10.1016/s1090-0233(02)00257-5)
- Kim, J., Ha, Y., Jung, K., Choi, C., & Chae, C. (2004). Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 68(3), 218–221.
- Kim, S.-C., Kim, J.-H., Kim, J.-Y., Park, G.-S., Jeong, C.-G., & Kim, W.-I. (2022). Prevalence of porcine parvovirus 1 through 7 (PPV1-PPV7) and co-factor association with PCV2 and PRRSV in Korea. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 133. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03236-1>
- Kim, S.-C., Nazki, S., Kwon, S., Juhng, J.-H., Mun, K.-H., Jeon, D.-Y., Jeong, C.-G., Khatun, A., Kang, S.-J., & Kim, W.-I. (2018). The prevalence and genetic characteristics of porcine circovirus type 2 and 3 in Korea. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 294. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1614-x>
- Kiss, I., Kecskeméti, S., Tuboly, T., Bajmócy, E., & Tanyi, J. (2000). New pig disease in Hungary: Postweaning multisystemic wasting syndrome caused by circovirus (short communication). *Acta Veterinaria Hungarica*, 48(4), 469–475. <https://doi.org/10.1556/004.48.2000.4.9>
- Kiss, I., Kovács, E., Zádori, Z., Mészáros, I., Cságola, A., Bajnóczi, P., Mortensen, P., & Palya, V. (2020). Vaccine Protection Against Experimental Challenge Infection with a PPV-27a Genotype Virus in Pregnant Gilts. *Veterinary Medicine (Auckland, N.Z.)*, 11, 17–24. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S236912>
- Kiupel, M., Stevenson, G. W., Mittal, S. K., Clark, E. G., & Haines, D. M. (1998). Circovirus-like Viral Associated Disease in Weaned Pigs in Indiana. *Veterinary Pathology*, 35(4), 303–307. <https://doi.org/10.1177/030098589803500411>

- Klaumann, F., Correa-Fiz, F., Sibila, M., Núñez, J. I., & Segalés, J. (2019). Infection dynamics of porcine circovirus type 3 in longitudinally sampled pigs from four Spanish farms. *Veterinary Record*, 184(20), 619–619. <https://doi.org/10.1136/vr.105219>
- Klaumann, F., Franzo, G., Sohrmann, M., Correa-Fiz, F., Drigo, M., Núñez, J. I., Sibila, M., & Segalés, J. (2018). Retrospective detection of *Porcine circovirus 3* (PCV-3) in pig serum samples from Spain. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(5), 1290–1296. <https://doi.org/10.1111/tbed.12876>
- Komina, A., Anoyatbekova, A., Krasnikov, N., & Yuzhakov, A. (2024). Identification and in vitro characterization of a novel porcine parvovirus 6 in Russia. *Veterinary Research Communications*, 48(1), 417–425. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10226-7>
- Krakowka, S., Hartunian, C., Hamberg, A., Shoup, D., Rings, M., Zhang, Y., Allan, G., & Ellis, J. A. (2008). Evaluation of induction of porcine dermatitis and nephropathy syndrome in gnotobiotic pigs with negative results for porcine circovirus type 2. *American Journal of Veterinary Research*, 69(12), 1615–1622. <https://doi.org/10.2460/ajvr.69.12.1615>
- Kroeger, M., Temeeyasen, G., & Piñeyro, P. E. (2022). Five years of porcine circovirus 3: What have we learned about the clinical disease, immune pathogenesis, and diagnosis. *Virus Research*, 314, 198764. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198764>
- Kroeger, M., Vargas-Bermudez, D. S., Jaime, J., Parada, J., Groeltz, J., Gauger, P., & Piñeyro, P. (2024). First detection of PCV4 in swine in the United States: Codetection with PCV2 and PCV3 and direct detection within tissues. *Scientific Reports*, 14(1), 15535. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-66328-y>
- Krog, J. S., Larsen, L. E., & Schultz, A. C. (2014). Enteric porcine viruses in farmed shellfish in Denmark. *International Journal of Food Microbiology*, 186, 105–109. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.012>
- Krüger, L., Längin, M., Reichart, B., Fiebig, U., Kristiansen, Y., Prinz, C., Kessler, B., Egerer, S., Wolf, E., Abicht, J.-M., & Denner, J. (2019). Transmission of Porcine Circovirus 3 (PCV3) by Xenotransplantation of Pig Hearts into Baboons. *Viruses*, 11(7), 650. <https://doi.org/10.3390/v11070650>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kurmann, J., Sydler, T., Brugnera, E., Buergi, E., Haessig, M., Suter, M., & Sidler, X. (2011). Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*, 18(10), 1644–1649. <https://doi.org/10.1128/CVI.05183-11>
- Kwon, T., Yoo, S. J., Park, C.-K., & Lyoo, Y. S. (2017). Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations. *Veterinary Microbiology*, 207, 178–180. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.06.013>
- Lagan Tregaskis, P., Staines, A., Gordon, A., Sheridan, P., McMenamy, M., Duffy, C., Collins, P. J., Mooney, M. H., & Lemon, K. (2021). Co-infection status of novel parvovirus's (PPV2 to 4) with porcine circovirus 2 in porcine respiratory disease complex and porcine circovirus-associated disease from 1997 to 2012. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 1979–1994. <https://doi.org/10.1111/tbed.13846>
- Lau, S. K. P., Woo, P. C. Y., Tse, H., Fu, C. T. Y., Au, W.-K., Chen, X.-C., Tsoi, H.-W., Tsang, T. H. F., Chan, J. S. Y., Tsang, D. N. C., Li, K. S. M., Tse, C. W. S., Ng, T.-K., Tsang, O. T. Y., Zheng, B.-J., Tam, S., Chan, K.-H., Zhou, B., & Yuen, K.-Y. (2008). Identification of novel porcine and bovine parvoviruses closely related to human parvovirus 4. *Journal of General Virology*, 89(8), 1840–1848. <https://doi.org/10.1099/vir.0.2008/000380-0>
- Letunic, I., & Bork, P. (2024). Interactive Tree of Life (iTOL) v6: Recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Research*, gkae268. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae268>
- Li, D., Wang, J., Xu, S., Cai, S., Ao, C., Fang, L., Xiao, S., Chen, H., & Jiang, Y. (2018). Identification and functional analysis of the novel ORF6 protein of porcine circovirus type 2 in vitro. *Veterinary Research Communications*, 42(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9702-0>

- Li, G., He, W., Zhu, H., Bi, Y., Wang, R., Xing, G., Zhang, C., Zhou, J., Yuen, K., Gao, G. F., & Su, S. (2018). Origin, Genetic Diversity, and Evolutionary Dynamics of Novel Porcine Circovirus 3. *Advanced Science*, 5(9), 1800275. <https://doi.org/10.1002/advs.201800275>
- Li, J., Xiao, Y., Qiu, M., Li, X., Li, S., Lin, H., Li, X., Zhu, J., & Chen, N. (2021). A Systematic Investigation Unveils High Coinfection Status of Porcine Parvovirus Types 1 through 7 in China from 2016 to 2020. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e01294-21. <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01294-21>
- Li, L., Kapoor, A., Slikas, B., Bamidele, O. S., Wang, C., Shaukat, S., Masroor, M. A., Wilson, M. L., Ndjango, J.-B. N., Peeters, M., Gross-Camp, N. D., Muller, M. N., Hahn, B. H., Wolfe, N. D., Triki, H., Bartkus, J., Zaidi, S. Z., & Delwart, E. (2010). Multiple diverse circoviruses infect farm animals and are commonly found in human and chimpanzee feces. *Journal of Virology*, 84(4), 1674–1682. <https://doi.org/10.1128/JVI.02109-09>
- Lian, H., Liu, Y., Li, N., Wang, Y., Zhang, S., & Hu, R. (2014). Novel Circovirus from Mink, China. *Emerging Infectious Diseases*, 20(9), 1548–1550. <https://doi.org/10.3201/eid2009.140015>
- Lin, W., Qiu, Z., Liu, Q., & Cui, S. (2013). Interferon induction and suppression in swine testicle cells by porcine parvovirus and its proteins. *Veterinary Microbiology*, 163(1–2), 157–161. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.11.032>
- Lin, W.-L., Chien, M.-S., Wu, P.-C., Lai, C.-L., & Huang, C. (2011). The Porcine Circovirus Type 2 Nonstructural Protein ORF3 Induces Apoptosis in Porcine Peripheral Blood Mononuclear Cells. *The Open Virology Journal*, 5, 148–153. <https://doi.org/10.2174/1874357901105010148>
- Liu, W., Zhang, Y., Ma, J., Jiang, N., Fan, Y., Zhou, Y., Cain, K., Yi, M., Jia, K., Wen, H., Liu, W., Guan, W., & Zeng, L. (2020). Determination of a novel parvovirus pathogen associated with massive mortality in adult tilapia. *PLoS Pathogens*, 16(9), e1008765. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008765>
- Loeffen, W. L. A., Heinen, P. P., Bianchi, A. T. J., Hunneman, W. A., & Verheijden, J. H. M. (2003). Effect of maternally derived antibodies on the clinical signs and immune response in pigs after primary and secondary infection with an influenza H1N1 virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 92(1–2), 23–35. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(03\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(03)00019-9)
- Lopez, W. A., Angulo, J., Zimmerman, J. J., & Linhares, D. C. L. (2018). Porcine reproductive and respiratory syndrome monitoring in breeding herds using processing fluids. *Journal of Swine Health and Production*, 26(3), 5.
- Lőrincz, M. (2014). A sertés circovírusok evolúciója. *PhD értekezés*.
- Lőrincz, M., Cságola, A., Biksi, I., Szeredi, L., Dán, Á., & Tuboly, T. (2010). *Detection of porcine circovirus in rodents—Short communication*. <https://doi.org/10.1556/avet.58.2010.2.12>
- Lőrincz, M., Cságola, A., Farkas, S., Székely, C., & Tuboly, T. (2011). First detection and analysis of a fish circovirus. *The Journal of general virology*, 92, 1817–1821. <https://doi.org/10.1099/vir.0.031344-0>
- Lőrincz, M., Dán, A., Láng, M., Csaba, G., Tóth, A. G., Székely, C., Cságola, A., & Tuboly, T. (2012). Novel circovirus in European catfish (*Silurus glanis*). *Archives of Virology*, 157(6), 1173–1176. <https://doi.org/10.1007/s00705-012-1291-1>
- Luka, P. D., Adediji, A. J., Jambol, A. R., Ifende, I. V., Luka, H. G., Choji, N. D., Weka, R., Settypalli, T. B. K., Achenbach, J. E., Cattoli, G., Lamien, C. E., Molini, U., Franzo, G., & Dundon, W. G. (2022). Coinfections of African swine fever virus, porcine circovirus 2 and 3, and porcine parvovirus 1 in swine in Nigeria. *Archives of Virology*, 167(12), 2715–2722. <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05593-6>
- Lv, Q., Guo, K., Xu, H., Wang, T., & Zhang, Y. (2015). Identification of Putative ORF5 Protein of Porcine Circovirus Type 2 and Functional Analysis of GFP-Fused ORF5 Protein. *PloS One*, 10(6), e0127859. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127859>
- Madson, D. M., Patterson, A. R., Ramamoorthy, S., Pal, N., Meng, X. J., & Opriessnig, T. (2009). Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination

- with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology*, 46(4), 707–716. <https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0234-O-FL>
- Mai, J., Wang, D., Zou, Y., Zhang, S., Meng, C., Wang, A., & Wang, N. (2021). High Co-infection Status of Novel Porcine Parvovirus 7 With Porcine Circovirus 3 in Sows That Experienced Reproductive Failure. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 695553. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.695553>
- Martínez, C., Dalsgaard, K., López de Turiso, J. A., Cortés, E., Vela, C., & Casal, J. I. (1992). Production of porcine parvovirus empty capsids with high immunogenic activity. *Vaccine*, 10(10), 684–690. [https://doi.org/10.1016/0264-410x\(92\)90090-7](https://doi.org/10.1016/0264-410x(92)90090-7)
- Mayr, A., & Mahnel, H. (1964). Cultivation of hog cholera virus in pig kidney cultures with cytopathogenic effect. *Zentralblatt Fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten Und Hygiene. 1. Abt. Medizinisch-Hygienische Bakteriologie, Virusforschung Und Parasitologie. Originale*, 195(2). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4953502/>
- McKeown, N. E., Opriessnig, T., Thomas, P., Guenette, D. K., Elvinger, F., Fenau, M., Halbur, P. G., & Meng, X. J. (2005). Effects of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Maternal Antibodies on Experimental Infection of Piglets with PCV2. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12(11), 1347–1351. <https://doi.org/10.1128/CDLI.12.11.1347-1351.2005>
- Meng, X.-J. (2013). Porcine circovirus type 2 (PCV2): Pathogenesis and interaction with the immune system. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1, 43–64. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103720>
- Mengeling, W. L., Brown, T. T., Paul, P. S., & Gutekunst, D. E. (1979). Efficacy of an inactivated virus vaccine for prevention of porcine parvovirus-induced reproductive failure. *American Journal of Veterinary Research*, 40(2), 204–207.
- Mészáros, I., Olasz, F., Cságola, A., Tijssen, P., & Zádori, Z. (2017). Biology of Porcine Parvovirus (Ungulate parvovirus 1). *Viruses*, 9(12), E393. <https://doi.org/10.3390/v9120393>
- Mészáros I., Tamás V., Olasz F., Varga R., Kiss I., & Zádori Z. (2022, január 17). A sertés parvovírus 27a törzsének szerológiai vizsgálata vírusneutralizációs kísérletekkel. Akadémiai beszámoló. <https://vmri.hu/hu/akademai-beszamolok/2021-evi-48-fuzet-beszamolok-2022-január-17-18>
- Mészáros, I., Tóth, R., Olasz, F., Tijssen, P., & Zádori, Z. (2017). The SAT Protein of Porcine Parvovirus Accelerates Viral Spreading through Induction of Irreversible Endoplasmic Reticulum Stress. *Journal of Virology*, 91(16), e00627-17. <https://doi.org/10.1128/JVI.00627-17>
- Mietzsch, M., Péntes, J. J., & Agbandje-McKenna, M. (2019). Twenty-Five Years of Structural Parvovirology. *Viruses*, 11(4), 362. <https://doi.org/10.3390/v11040362>
- Milek, D., Woźniak, A., Guzowska, M., & Stadejek, T. (2019). Detection Patterns of Porcine Parvovirus (PPV) and Novel Porcine Parvoviruses 2 through 6 (PPV2–PPV6) in Polish Swine Farms. *Viruses*, 11(5), 474. <https://doi.org/10.3390/v11050474>
- Milek, D., Woźniak, A., Podgórska, K., & Stadejek, T. (2020). Do porcine parvoviruses 1 through 7 (PPV1-PPV7) have an impact on porcine circovirus type 2 (PCV2) viremia in pigs? *Veterinary Microbiology*, 242, 108613. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108613>
- Milek, D., Woźniak, A., & Stadejek, T. (2018). The detection and genetic diversity of novel porcine parvovirus 7 (PPV7) on Polish pig farms. *Research in Veterinary Science*, 120, 28–32. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.08.004>
- Molossi, F. A., de Almeida, B. A., de Cecco, B. S., da Silva, M. S., Mósen, A. C. S., Brandalise, L., Simão, G. M. R., Canal, C. W., Vanucci, F., Pavarini, S. P., & Driemeier, D. (2022). A putative PCV3-associated disease in piglets from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 53(1), 491–498. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00644-7>
- 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(2), 219. <https://doi.org/10.3390/v12020219>

- Morozov, I., Sirinarumitr, T., Sorden, S. D., Halbur, P. G., Morgan, M. K., Yoon, K.-J., & Paul, P. S. (1998). Detection of a Novel Strain of Porcine Circovirus in Pigs with Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9), 2535–2541.
- Muhling, J., Raye, W., Buddle, J., & Wilcox, G. (2006). Genetic characterisation of Australian strains of porcine circovirus types 1 and 2. *Australian Veterinary Journal*, 84(12), 421–425. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2006.00081.x>
- Nauwynck, H. J., Sanchez, R., Meerts, P., Lefebvre, D. J., Saha, D., Huang, L., & Misinzo, G. (2012). Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. *Virus Research*, 164(1–2), 43–45. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.11.003>
- Nelsen, A., Lin, C.-M., & Hause, B. M. (2021). Porcine Parvovirus 2 Is Predominantly Associated With Macrophages in Porcine Respiratory Disease Complex. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 726884. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.726884>
- Nguyen, V., Do, H., Huynh, T., Park, Y., Park, B., & Chung, H. (2021). Molecular-based detection, genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus 4 from Korean domestic swine farms. *Transboundary and Emerging Diseases*, tbed.14017. <https://doi.org/10.1111/tbed.14017>
- Ni, J., Qiao, C., Han, X., Han, T., Kang, W., Zi, Z., Cao, Z., Zhai, X., & Cai, X. (2014). Identification and genomic characterization of a novel porcine parvovirus (PPV6) in china. *Virology Journal*, 11(1), 203. <https://doi.org/10.1186/s12985-014-0203-2>
- Norja, P., Eis-Hübinger, A. M., Söderlund-Venermo, M., Hedman, K., & Simmonds, P. (2008). Rapid Sequence Change and Geographical Spread of Human Parvovirus B19: Comparison of B19 Virus Evolution in Acute and Persistent Infections. *Journal of Virology*, 82(13), 6427–6433. <https://doi.org/10.1128/JVI.00471-08>
- Novosel, D., Cadar, D., Tuboly, T., Jungic, A., Stadejek, T., Ait-Ali, T., & Cságola, A. (2018). Investigating porcine parvoviruses genogroup 2 infection using in situ polymerase chain reaction. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 163. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1487-z>
- Oh, W.-T., Kim, R.-Y., Nguyen, V.-G., Chung, H.-C., & Park, B.-K. (2017). Perspectives on the Evolution of Porcine Parvovirus. *Viruses*, 9(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/v9080196>
- Oliver-Ferrando, S., Segalés, J., López-Soria, S., Callén, A., Merdy, O., Joisel, F., & Sibila, M. (2016). Evaluation of natural porcine circovirus type 2 (PCV2) subclinical infection and seroconversion dynamics in piglets vaccinated at different ages. *Veterinary Research*, 47(1), 121. <https://doi.org/10.1186/s13567-016-0405-2>
- Opriessnig, T., Fenaux, M., Yu, S., Evans, R. B., Cavanaugh, D., Gallup, J. M., Pallares, F. J., Thacker, E. L., Lager, K. M., Meng, X. J., & Halbur, P. G. (2004). Effect of porcine parvovirus vaccination on the development of PMWS in segregated early weaned pigs coinfecting with type 2 porcine circovirus and porcine parvovirus. *Veterinary Microbiology*, 98(3), 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.11.006>
- Opriessnig, T., Giménez-Lirola, L. G., & Halbur, P. G. (2011). Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Research Reviews*, 12(2), 133–148. <https://doi.org/10.1017/S1466252311000120>
- Opriessnig, T., Thacker, E. L., Yu, S., Fenaux, M., Meng, X.-J., & Halbur, P. G. (2004). Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs by dual infection with *Mycoplasma hyopneumoniae* and porcine circovirus type 2. *Veterinary Pathology*, 41(6), 624–640. <https://doi.org/10.1354/vp.41-6-624>
- Opriessnig, T., Xiao, C.-T., Gerber, P. F., & Halbur, P. G. (2013). Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the U.S. concurrently infected with PPV2. *Veterinary Microbiology*, 163(1–2), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.019>
- Opriessnig, T., Xiao, C.-T., Gerber, P. F., & Halbur, P. G. (2014). Identification of recently described porcine parvoviruses in archived North American samples from 1996 and association with porcine circovirus associated disease. *Veterinary Microbiology*, 173(1–2), 9–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.024>

- Opriessnig, T., Xiao, C.-T., Gerber, P. F., Halbur, P. G., Matzinger, S. R., & Meng, X.-J. (2014). Mutant USA strain of porcine circovirus type 2 (mPCV2) exhibits similar virulence to the classical PCV2a and PCV2b strains in caesarean-derived, colostrum-deprived pigs. *The Journal of General Virology*, 95(Pt 11), 2495–2503. <https://doi.org/10.1099/vir.0.066423-0>
- Ouh, I.-O., Lee, J.-Y., Choi, H., Moon, S. Y., Song, J. Y., Hyun, B.-H., Kwak, D., Lee, Y.-H., & Park, C.-K. (2023). *Prevalence of Porcine Parvoviruses 1 to 6 and Porcine Circovirus 3 Infections and of Their Co-infections With Porcine Circovirus 2 in the Republic of Korea* [Preprint]. *Biology and Life Sciences*. <https://doi.org/10.20944/preprints202305.1112.v1>
- Ouh, I.-O., Park, S., Lee, J.-Y., Song, J. Y., Cho, I.-S., Kim, H.-R., & Park, C.-K. (2018). First detection and genetic characterization of porcine parvovirus 7 from Korean domestic pig farms. *Journal of Veterinary Science*, 19(6), 855–857. <https://doi.org/10.4142/jvs.2018.19.6.855>
- Palinski, R. (2016, december 1). *The application of metagenomic sequencing to detect and characterize emerging porcine viruses*. <http://hdl.handle.net/2097/34468>
- Palinski, R. M., Mitra, N., & Hause, B. M. (2016). Discovery of a novel Parvovirinae virus, porcine parvovirus 7, by metagenomic sequencing of porcine rectal swabs. *Virus Genes*, 52(4), 564–567. <https://doi.org/10.1007/s11262-016-1322-1>
- Palinski, R., Piñeyro, P., Shang, P., Yuan, F., Guo, R., Fang, Y., Byers, E., & Hause, B. M. (2017). A Novel Porcine Circovirus Distantly Related to Known Circoviruses Is Associated with Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome and Reproductive Failure. *Journal of Virology*, 91(1), e01879-16, e01879-16. <https://doi.org/10.1128/JVI.01879-16>
- Palya, V., Homonnay, Z. G., Mató, T., & Kiss, I. (2018). Characterization of a PCV2d-2 isolate by experimental infection of pigs. *Virology Journal*, 15, 185. <https://doi.org/10.1186/s12985-018-1098-0>
- Park, B. S., Hong, J., Jun, J., Choi, A. K., Park, C. K., & Lyoo, Y. S. (2024). Notable mutations of porcine parvovirus 1 and 4 circulating in commercial pig farms in South Korea. *Korean Journal of Veterinary Research*, 64(1), e4. <https://doi.org/10.14405/kjvr.20230036>
- Park, G.-N., Song, S., Cha, R. M., Choe, S., Shin, J., Kim, S.-Y., Hyun, B.-H., Park, B.-K., & An, D.-J. (2021). Genetic analysis of porcine parvoviruses detected in South Korean wild boars. *Archives of Virology*, 166(8), 2249–2254. <https://doi.org/10.1007/s00705-021-05106-x>
- Parke, C. R., & Burgess, G. W. (1993). An economic assessment of porcine parvovirus vaccination. *Australian Veterinary Journal*, 70(5), 177–180. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb06124.x>
- Patterson, A. R., & Opriessnig, T. (2010). Epidemiology and horizontal transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, 11(2), 217–234. Scopus. <https://doi.org/10.1017/S1466252310000162>
- Pensaert, M. B., Sanchez, R. E., Ladekjaer-Mikkelsen, A. S., Allan, G. M., & Nauwynck, H. J. (2004). Viremia and effect of fetal infection with porcine viruses with special reference to porcine circovirus 2 infection. *Veterinary Microbiology*, 98(2), 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.10.011>
- Pénzes, J. J., de Souza, W. M., Agbandje-McKenna, M., & Gifford, R. J. (2019). An Ancient Lineage of Highly Divergent Parvoviruses Infects both Vertebrate and Invertebrate Hosts. *Viruses*, 11(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/v11060525>
- Pénzes, J. J., Söderlund-Venermo, M., Canuti, M., Eis-Hübing, A. M., Hughes, J., Cotmore, S. F., & Harrach, B. (2020). Reorganizing the family Parvoviridae: A revised taxonomy independent of the canonical approach based on host association. *Archives of Virology*, 165(9), 2133–2146. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04632-4>
- Pescador, C. A., Bandarra, P. M., Castro, L. A., Antoniassi, N. A. B., Ravazzolo, A. P., Sonne, L., Cruz, C. E. F., & Driemeier, D. (2007). Co-infection by porcine circovirus type 2 and

- porcine parvovirus in aborted fetuses and stillborn piglets in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 27, 425–429. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2007001000007>
- Phan, T. G., Giannitti, F., Rossow, S., Marthaler, D., Knutson, T. P., Li, L., Deng, X., Resende, T., Vannucci, F., & Delwart, E. (2016). Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. *Virology Journal*, 13(1), 184. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0642-z>
- Pié, S., Lallès, J. P., Blazy, F., Laffitte, J., Sève, B., & Oswald, I. P. (2004). Weaning Is Associated with an Upregulation of Expression of Inflammatory Cytokines in the Intestine of Piglets. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 641–647. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.641>
- Piñeyro, P., Arruda, B., Burrough, E. R., Gauger, P., & Rodger, M. G. (2018, július 3). *Porcine circovirus 3: A new member of the PCVAD complex?* National Hog Farmer. <https://www.nationalhogfarmer.com/hog-health/porcine-circovirus-3-a-new-member-of-the-pcvad-complex->
- Pinheiro, A. L. B. C., Bulos, L. H. S., Onofre, T. S., de Paula Gabardo, M., de Carvalho, O. V., Fausto, M. C., Guedes, R. M. C., de Almeida, M. R., & Silva, A. (2013). Verification of natural infection of peridomestic rodents by PCV2 on commercial swine farms. *Research in Veterinary Science*, 94(3), 764–768. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.10.006>
- Plut, J., Jamnikar-Ciglenecki, U., Golinar-Oven, I., Knific, T., & Stukelj, M. (2020). A molecular survey and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 using oral fluid, faeces and serum. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 281. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02489-y>
- Prickett, J., Kim, W., Simer, R., Yoon, K.-J., & Zimmerman, J. (2008). Oral-fluid samples for surveillance of commercial growing pigs for porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2 infections. *Journal of Swine Health and Production*, 16(2), 86–41. <https://doi.org/10.54846/jshap/565>
- Prickett, J. R., Johnson, J., Murtaugh, M. P., Puvanendiran, S., Wang, C., Zimmerman, J. J., & Opriessnig, T. (2011). Prolonged Detection of PCV2 and Anti-PCV2 Antibody in Oral Fluids Following Experimental Inoculation. *Transboundary and Emerging Diseases*, 58(2), 121–127. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2010.01189.x>
- Puvanendiran, S., Stone, S., Yu, W., Johnson, C. R., Abrahante, J., Jimenez, L. G., Griggs, T., Haley, C., Wagner, B., & Murtaugh, M. P. (2011). Absence of porcine circovirus type 1 (PCV1) and high prevalence of PCV 2 exposure and infection in swine finisher herds. *Virus Research*, 157(1), 92–98. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.02.012>
- Qi, S., Su, M., Guo, D., Li, C., Wei, S., Feng, L., & Sun, D. (2019). Molecular detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in 21 Provinces of China during 2015–2017. *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(2), 1004–1015. <https://doi.org/10.1111/tbed.13125>
- Qin, S., Ruan, W., Yue, H., Tang, C., Zhou, K., & Zhang, B. (2018). Viral communities associated with porcine respiratory disease complex in intensive commercial farms in Sichuan province, China. *Scientific Reports*, 8(1), 13341. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31554-8>
- Ramirez, A., Wang, C., Prickett, J. R., Pogranichniy, R., Yoon, K.-J., Main, R., Johnson, J. K., Rademacher, C., Hoogland, M., Hoffmann, P., Kurtz, A., Kurtz, E., & Zimmerman, J. (2012). Efficient surveillance of pig populations using oral fluids. *Preventive Veterinary Medicine*, 104(3), 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.11.008>
- Ren, X., Tao, Y., Cui, J., Suo, S., Cong, Y., & Tijssen, P. (2013). Phylogeny and evolution of porcine parvovirus. *Virus Research*, 178(2), 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.09.014>
- Riolobos, L., Reguera, J., Mateu, M. G., & Almendral, J. M. (2006). Nuclear transport of trimeric assembly intermediates exerts a morphogenetic control on the icosahedral parvovirus capsid. *Journal of Molecular Biology*, 357(3), 1026–1038. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.019>

- Rodrigues, I. L. F., Cruz, A. C. M., Souza, A. E., Knackfuss, F. B., Costa, C. H. C., Silveira, R. L., & Castro, T. X. (2020). Retrospective study of porcine circovirus 3 (PCV3) in swine tissue from Brazil (1967–2018). *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(3), 1391–1397. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00281-6>
- Rodríguez-Arriola, G. M., Segalés, J., Calsamiglia, M., Resendes, A. R., Balasch, M., Plana-Durán, J., Casal, J., & Domingo, M. (2002). Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research*, 63(3), 354–357. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2002.63.354>
- Roediger, B., Lee, Q., Tikoo, S., Cobbin, J. C. A., Henderson, J. M., Jormakka, M., O'Rourke, M. B., Padula, M. P., Pinello, N., Henry, M., Wynne, M., Santagostino, S. F., Brayton, C. F., Rasmussen, L., Lisowski, L., Tay, S. S., Harris, D. C., Bertram, J. F., Dowling, J. P., ... Weninger, W. (2018). An atypical parvovirus driving chronic tubulointerstitial nephropathy and kidney fibrosis. *Cell*, 175(2), 530–543.e24. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.013>
- Rosario, K., Breitbart, M., Harrach, B., Segalés, J., Delwart, E., Biagini, P., & Varsani, A. (2017). Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: Establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. *Archives of Virology*, 162(5), 1447–1463. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3247-y>
- Rosell, C., Segalés, J., Plana-Durán, J., Balasch, M., Rodríguez-Arriola, G. M., Kennedy, S., Allan, G. M., McNeilly, F., Latimer, K. S., & Domingo, M. (1999). Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *Journal of Comparative Pathology*, 120(1), 59–78. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1998.0258>
- Saade, G., Deblanc, C., Bougon, J., Marois-Créhan, C., Fablet, C., Auray, G., Belloc, C., Leblanc-Maridor, M., Gagnon, C. A., Zhu, J., Gottschalk, M., Summerfield, A., Simon, G., Bertho, N., & Meurens, F. (2020). Coinfections and their molecular consequences in the porcine respiratory tract. *Veterinary Research*, 51(1), 80. <https://doi.org/10.1186/s13567-020-00807-8>
- Saekhow, P., & Ikeda, H. (2015). Prevalence and genomic characterization of porcine parvoviruses detected in Chiangmai area of Thailand in 2011. *Microbiology and Immunology*, 59(2), 82–88. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12218>
- Saha, D., Lefebvre, D. J., Ducatelle, R., Doorselaere, J. V., & Nauwynck, H. J. (2011). Outcome of experimental porcine circovirus type 1 infections in mid-gestational porcine fetuses. *BMC Veterinary Research*, 7, 64. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-7-64>
- Saha, D., Lefebvre, D. J., Ooms, K., Huang, L., Delputte, P. L., Van Doorselaere, J., & Nauwynck, H. J. (2012). Single amino acid mutations in the capsid switch the neutralization phenotype of porcine circovirus 2. *The Journal of General Virology*, 93(Pt 7), 1548–1555. <https://doi.org/10.1099/vir.0.042085-0>
- Sanchez, R. E., Meerts, P., Nauwynck, H. J., & Pensaert, M. B. (2003). Change of porcine circovirus 2 target cells in pigs during development from fetal to early postnatal life. *Veterinary Microbiology*, 95(1–2), 15–25. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(03\)00120-2](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(03)00120-2)
- 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. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2936–2948. <https://doi.org/10.1111/tbed.14204>
- Saporiti, V., Valls, L., Maldonado, J., Perez, M., Correa-Fiz, F., Segalés, J., & Sibila, M. (2021). Porcine Circovirus 3 Detection in Aborted Fetuses and Stillborn Piglets from Swine Reproductive Failure Cases. *Viruses*, 13(2), 264. <https://doi.org/10.3390/v13020264>
- Sarli, G., D'Annunzio, G., Gobbo, F., Benazzi, C., & Ostanello, F. (2021). The Role of Pathology in the Diagnosis of Swine Respiratory Disease. *Veterinary Sciences*, 8(11), 256. <https://doi.org/10.3390/vetsci8110256>
- Savic, B., Milicevic, V., Radanovic, O., Zdravkovic, N., Stevancevic, O., Kureljusic, B., & Nesic, K. (2020). Identification and genetic characterization of porcine circovirus 3 on pig

- farms in Serbia. *Archives of Virology*, 165(1), 193–199. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04455-y>
- Schirtzinger, E. E., Suddith, A. W., Hause, B. M., & Hesse, R. A. (2015). First identification of porcine parvovirus 6 in North America by viral metagenomic sequencing of serum from pigs infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Virology Journal*, 12, 170. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0401-6>
- Segalés, J. (2012). Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: Clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research*, 164(1–2), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2011.10.007>
- Segalés, J. (2015). Best practice and future challenges for vaccination against porcine circovirus type 2. *Expert Review of Vaccines*, 14(3), 473–487. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.983084>
- Segalés, J., Domingo, M., Chianini, F., Majó, N., Domínguez, J., Darwich, L., & Mateu, E. (2004). Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Veterinary Microbiology*, 98(2), 151–158. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.10.007>
- Segalés, J., Kekarainen, T., & Cortey, M. (2013). The natural history of porcine circovirus type 2: From an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Veterinary Microbiology*, 165(1–2), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.033>
- Segalés, J., & Sibila, M. (2022). Revisiting Porcine Circovirus Disease Diagnostic Criteria in the Current Porcine Circovirus 2 Epidemiological Context. *Veterinary Sciences*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/vetsci9030110>
- Serena, M. S., Cappuccio, J. A., Barrales, H., Metz, G. E., Aspitia, C. G., Lozada, I., Perfumo, C. J., Quiroga, M. A., Piñeyro, P., & Echeverría, M. G. (2021). First detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 (PCV3) in Argentina and its association with reproductive failure. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(4), 1761–1766. <https://doi.org/10.1111/tbed.13893>
- Shackelton, L. A., Hoelzer, K., Parrish, C. R., & Holmes, E. C. (2007). Comparative analysis reveals frequent recombination in the parvoviruses. *The Journal of General Virology*, 88(Pt 12), 3294–3301. <https://doi.org/10.1099/vir.0.83255-0>
- Shackelton, L. A., & Holmes, E. C. (2006). Phylogenetic Evidence for the Rapid Evolution of Human B19 Erythrovirus. *Journal of Virology*, 80(7), 3666–3669. <https://doi.org/10.1128/JVI.80.7.3666-3669.2006>
- Shangjin, C., Cortey, M., & Segalés, J. (2009). Phylogeny and evolution of the NS1 and VP1/VP2 gene sequences from porcine parvovirus. *Virus Research*, 140(1–2), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2008.11.003>
- Sharma, R., & Saikumar, G. (2010). Porcine parvovirus- and porcine circovirus 2-associated reproductive failure and neonatal mortality in crossbred Indian pigs. *Tropical Animal Health and Production*, 42(3), 515–522. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9454-0>
- Shen, H.-G., Loiacono, C. M., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (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(1), 17–24.
- Sibila, M., Calsamiglia, M., Segalés, J., Blanchard, P., Badiella, L., Le Dimna, M., Jestin, A., & Domingo, M. (2004). Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *American Journal of Veterinary Research*, 65(1), 88–92. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2004.65.88>
- Simpson, A. A., Hébert, B., Sullivan, G. M., Parrish, C. R., Zádori, Z., Tijssen, P., & Rossmann, M. G. (2002). The structure of porcine parvovirus: Comparison with related viruses. *Journal of Molecular Biology*, 315(5), 1189–1198. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.5319>
- Sirisereewan, C., Nguyen, T. C., Piewbang, C., Jittimanee, S., Kedkovid, R., & Thanawongnuwech, R. (2023). Molecular detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 (PCV4) in Thailand during 2019–2020. *Scientific Reports*, 13(1), 5168. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32382-1>

- Song, T., Hao, J., Zhang, R., Tang, M., Li, W., Hui, W., Fu, Q., Wang, C., Xin, S., Zhang, S., Rui, P., Ren, H., & Ma, Z. (2019). First detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 in raccoon dogs. *BMC Veterinary Research*, 15(1). Scopus. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1856-2>
- Sorden, S. D. (2000). Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health and Production*, 8(3).
- Sorden, S. D., Harms, P. A., Nawagitgul, P., Cavanaugh, D., & Paul, P. S. (1999). Development of a polyclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of type 2 porcine circovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11(6), 528–530. <https://doi.org/10.1177/104063879901100607>
- Stadejek, T., Cybulski, P., Gauger, P. C., & Woźniak, A. (2022). European and American Strains of Porcine Parainfluenza Virus 1 (PPV-1) Belong to Two Distinct Genetic Lineages. *Pathogens*, 11(3), 375. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030375>
- Stadejek, T., Woźniak, A., Milek, D., & Biernacka, K. (2017). First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. *Transboundary and Emerging Diseases*, 64(5), 1350–1353. <https://doi.org/10.1111/tbed.12672>
- Streck, A. F., Canal, C. W., & Truyen, U. (2015). Molecular epidemiology and evolution of porcine parvoviruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, 300–306. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.10.007>
- Streck, A. F., Canal, C. W., & Truyen, U. (2022). Viral Fitness and Antigenic Determinants of Porcine Parvovirus at the Amino Acid Level of the Capsid Protein. *Journal of Virology*, 96(2), e0119821. <https://doi.org/10.1128/JVI.01198-21>
- Streck, A. F., Homeier, T., Foerster, T., Fischer, S., & Truyen, U. (2013). Analysis of porcine parvoviruses in tonsils and hearts from healthy pigs reveals high prevalence and genetic diversity in Germany. *Archives of Virology*, 158(6), 1173–1180. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1603-0>
- Streck, A. F., Homeier, T., Foerster, T., & Truyen, U. (2013). Population dynamics and in vitro antibody pressure of porcine parvovirus indicate a decrease in variability. *Journal of General Virology*, 94(9), 2050–2055. <https://doi.org/10.1099/vir.0.052555-0>
- Studdert, M. J., & Peterson, J. E. (1973). Some properties of feline panleukopenia virus. *Archiv Für Die Gesamte Virusforschung*, 42(4), 346–354. <https://doi.org/10.1007/BF01250715>
- Sun, J., Huang, L., Wei, Y., Wang, Y., Chen, D., Du, W., Wu, H., & Liu, C. (2015). Prevalence of emerging porcine parvoviruses and their co-infections with porcine circovirus type 2 in China. *Archives of Virology*, 160(5), 1339–1344. <https://doi.org/10.1007/s00705-015-2373-7>
- Sun, W., Du, Q., Han, Z., Bi, J., Lan, T., Wang, W., & Zheng, M. (2021). Detection and genetic characterization of porcine circovirus 4 (PCV4) in Guangxi, China. *Gene*, 773, 145384. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.145384>
- Szeredi, L., Cságola, A., Dán, Á., & Dencső, L. (2015). *Vascular lesions and pneumonia in a pig fetus infected by porcine circovirus type 2*. <https://doi.org/10.1556/004.2015.019>
- Tan, C. Y., Thanawongnuwech, R., Arshad, S. S., Hassan, L., Lee, C. Y., Low, S. E., Fong, W. C. M., & Ooi, P. T. (2023). First molecular detection of porcine circovirus type 4 (PCV4) in Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 40(3), 301–306. <https://doi.org/10.47665/tb.40.3.005>
- Tang, Q., Li, S., Zhang, H., Wei, Y., Wu, H., Liu, J., Wang, Y., Liu, D., Zhang, Z., & Liu, C. (2013). Correlation of the cyclin A expression level with porcine circovirus type 2 propagation efficiency. *Archives of Virology*, 158(12), 2553–2560. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1785-5>
- Tarján, Z. L., Péntes, J. J., Tóth, R. P., & Benkő, M. (2014). First detection of circovirus-like sequences in amphibians and novel putative circoviruses in fishes. *Acta Veterinaria Hungarica*, 62(1), 134–144. <https://doi.org/10.1556/AVet.2013.061>
- Tattersall, P., & Ward, D. C. (1976). Rolling hairpin model for replication of parvovirus and linear chromosomal DNA. *Nature*, 263(5573), 106–109. <https://doi.org/10.1038/263106a0>

- Tegegne, D., Tsegaye, G., Aman, S., Faustini, G., & Franzo, G. (2022). Molecular Epidemiology and Genetic Characterization of PCV2 Circulating in Wild Boars in Southwestern Ethiopia. *Journal of Tropical Medicine*, 2022, 5185247. <https://doi.org/10.1155/2022/5185247>
- Thuy, N. T. D., Trung, N. T., Dung, T. Q., Khoa, D. V. A., Thuy, D. T. N., & Opriessnig, T. (2021). First investigation of the prevalence of parvoviruses in slaughterhouse pigs and genomic characterization of ungulate copiparvovirus 2 in Vietnam. *Archives of Virology*, 166(3), 779–788. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04928-5>
- Tian, R.-B., Zhao, Y., Cui, J.-T., Zheng, H.-H., Xu, T., Hou, C.-Y., Wang, Z.-Y., Li, X.-S., Zheng, L.-L., & Chen, H.-Y. (2021). Molecular detection and phylogenetic analysis of Porcine circovirus 4 in Henan and Shanxi Provinces of China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(2), 276–282. <https://doi.org/10.1111/tbed.13714>
- Ticó, G., Segalés, J., & Martínez, J. (2013). The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex. *Veterinary Microbiology*, 163(3), 242–247. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.001>
- Tischer, I., Gelderblom, H., Vettermann, W., & Koch, M. A. (1982). A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature*, 295(5844), 64–66. <https://doi.org/10.1038/295064a0>
- Tischer, I., Miels, W., Wolff, D., Vagt, M., & Griem, W. (1986). Studies on epidemiology and pathogenicity of porcine circovirus. *Archives of Virology*, 91(3–4), 271–276. <https://doi.org/10.1007/BF01314286>
- Tochetto, C., Lima, D. A., Varela, A. P. M., Loiko, M. R., Paim, W. P., Scheffer, C. M., Herpich, J. I., Cerva, C., Schmitd, C., Cibulski, S. P., Santos, A. C., Mayer, F. Q., & Roehe, P. M. (2018). Full-Genome Sequence of Porcine Circovirus type 3 recovered from serum of sows with stillbirths in Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 5–9. <https://doi.org/10.1111/tbed.12735>
- Trevisan, G., Jablonski, E., Angulo, J., Lopez, W. A., & Linhares, D. C. L. (2019). Use of processing fluid samples for longitudinal monitoring of PRRS virus in herds undergoing virus elimination. *Porcine Health Management*, 5, 18. <https://doi.org/10.1186/s40813-019-0125-x>
- Trible, B. R., Kerrigan, M., Crossland, N., Potter, M., Faaberg, K., Hesse, R., & Rowland, R. R. (2011). Antibody recognition of porcine circovirus type 2 capsid protein epitopes after vaccination, infection, and disease. *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*, 18(5), 749–757. <https://doi.org/10.1128/CVI.00418-10>
- Vargas-Bermudez, D. S., Diaz, A., Polo, G., Mogollon, J. D., & Jaime, J. (2024). Infection and Coinfection of Porcine-Selected Viruses (PPV1 to PPV8, PCV2 to PCV4, and PRRSV) in Gilts and Their Associations with Reproductive Performance. *Veterinary Sciences*, 11(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci11050185>
- Vargas-Bermudez, D. S., & Jaime, J. (2024). The first report of porcine parvovirus 8 (PPV8) on the American continent is associated with pigs in Colombia with porcine respiratory disease. *Archives of Virology*, 169(9), 179. <https://doi.org/10.1007/s00705-024-06099-z>
- Vargas-Bermudez, D. S., Rendon-Marin, S., Ruiz-Saenz, J., Mogollón, D., & Jaime, J. (2021). The first report of porcine parvovirus 7 (PPV7) in Colombia demonstrates the presence of variants associated with modifications at the level of the VP2-capsid protein. *PloS One*, 16(12), e0258311. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258311>
- Vargas-Bermúdez, D. S., Vargas-Pinto, M. A., Mogollón, J. D., & 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 Veterinary Research*, 17(1), 150. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02862-5>
- Vereecke, N., Kvisgaard, L. K., Baele, G., Boone, C., Kunze, M., Larsen, L. E., Theuns, S., & Nauwynck, H. (2022). Molecular epidemiology of Porcine Parvovirus Type 1 (PPV1) and the reactivity of vaccine-induced antisera against historical and current PPV1 strains. *Virus Evolution*, 8(1), veac053. <https://doi.org/10.1093/ve/veac053>

- Vilalta, C., Sanhueza, J. M., Murray, D., Johnson, L., & Pieters, M. (2019). Detection of *Mycoplasma hyopneumoniae* in piglet processing fluids. *Veterinary Record*, 185(16), 510–510. <https://doi.org/10.1136/vr.105475>
- Visuthsak, W., Woonwong, Y., Thanantong, N., Poolperm, P., Boonsoongnern, A., Ratanavanichrojn, N., Jirawattanapong, P., Soda, N., Kaminsonsakul, T., Phuttapatimok, S., & Sukmak, M. (2021). PCV3 in Thailand: Molecular epidemiology and relationship with PCV2. *Transboundary and Emerging Diseases*, 68(6), 2980–2989. <https://doi.org/10.1111/tbed.14294>
- Wang, D., Mai, J., Yang, Y., & Wang, N. (2020). Porcine Parvovirus 7: Evolutionary Dynamics and Identification of Epitopes toward Vaccine Design. *Vaccines*, 8(3), 359. <https://doi.org/10.3390/vaccines8030359>
- Wang, D., Mai, J., Yang, Y., Xiao, C.-T., & Wang, N. (2022). Current knowledge on epidemiology and evolution of novel porcine circovirus 4. *Veterinary Research*, 53, 38. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01053-w>
- Wang, S., Xin, C., Wu, X., Shi, J., Peng, Z., Sun, P., Wang, Y., Xu, S., Yang, Y., Zhang, F., & Li, J. (2020). Genetic characterization of Porcine circovirus type 2 from 2013 to 2018 in Shandong Province, China. *Veterinary Medicine and Science*, 6(1), 76–81. <https://doi.org/10.1002/vms3.196>
- Wang, W., Sun, W., Cao, L., Zheng, M., Zhu, Y., Li, W., Liu, C., Zhuang, X., Xing, J., Lu, H., Luo, T., & Jin, N. (2019). An epidemiological investigation of porcine circovirus 3 infection in cattle in Shandong province, China. *BMC Veterinary Research*, 15, 60. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1793-0>
- Wang, X., Chen, L., Yuan, W., Li, Y., Li, L., Li, T., Li, H., & Song, Q. (2017). Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) on the function of splenic CD11c+ dendritic cells in mice. *Archives of Virology*, 162(5), 1289–1298. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3221-8>
- 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. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(3), 1284–1294. <https://doi.org/10.1111/tbed.13467>
- Waterhouse, A. M., Procter, J. B., Martin, D. M. A., Clamp, M., & Barton, G. J. (2009). Jalview Version 2—A multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics*, 25(9), 1189–1191. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
- Wei, C., Zhang, M., Chen, Y., Xie, J., Huang, Z., Zhu, W., Xu, T., Cao, Z., Zhou, P., Su, S., & Zhang, G. (2013). Genetic evolution and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 infections in southern China from 2011 to 2012. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 17, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.041>
- Wei, R., Xie, J., Theuns, S., & Nauwynck, H. J. (2019). Changes on the viral capsid surface during the evolution of porcine circovirus type 2 (PCV2) from 2009 till 2018 may lead to a better receptor binding. *Virus Evolution*, 5(2), vez026. <https://doi.org/10.1093/ve/vez026>
- Wellenberg, G. J., Stockhofe-Zurwieden, N., de Jong, M. F., Boersma, W. J. A., & Elbers, A. R. W. (2004). Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: A case-control study. *Veterinary Microbiology*, 99(3–4), 203–214. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.01.001>
- Wen, S., Sun, W., Li, Z., Zhuang, X., Zhao, G., Xie, C., Zheng, M., Jing, J., Xiao, P., Wang, M., Han, J., Ren, J., Liu, H., Lu, H., & Jin, N. (2018). The detection of porcine circovirus 3 in Guangxi, China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 65(1), 27–31. <https://doi.org/10.1111/tbed.12754>
- West, K. H., Bystrom, J. M., Wojnarowicz, C., Shantz, N., Jacobson, M., Allan, G. M., Haines, D. M., Clark, E. G., Krakowka, S., McNeilly, F., Konoby, C., Martin, K., & Ellis, J. A. (1999). Myocarditis and Abortion Associated with Intrauterine Infection of Sows with

- Porcine Circovirus 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 11(6), 530–532. <https://doi.org/10.1177/104063879901100608>
- Wilhelm, S., Zeeuw, E. J. L., Selbitz, H.-J., & Truyen, U. (2005). Tissue distribution of two field isolates and two vaccine strains of porcine parvovirus in foetal organs after experimental infection of pregnant sows as determined by real-time PCR. *Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, 52(7–8), 323–326. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2005.00878.x>
- Woo, P. C. Y., Lau, S. K. P., Teng, J. L. L., Tsang, A. K. L., Joseph, M., Wong, E. Y. M., Tang, Y., Sivakumar, S., Bai, R., Wernery, R., Wernery, U., & Yuen, K.-Y. (2014). Metagenomic analysis of viromes of dromedary camel fecal samples reveals large number and high diversity of circoviruses and picobirnaviruses. *Virology*, 471–473, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.09.020>
- Woźniak, A., Miłek, D., Baska, P., & Stadejek, T. (2019). Does porcine circovirus type 3 (PCV3) interfere with porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccine efficacy? *Transboundary and Emerging Diseases*, 66(4), 1454–1461. <https://doi.org/10.1111/tbed.13221>
- Woźniak, A., Miłek, D., Matyba, P., & Stadejek, T. (2019). Real-Time PCR Detection Patterns of Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) in Polish Farms with Different Statuses of Vaccination against PCV2. *Viruses*, 11(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/v11121135>
- 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(5), 411. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050411>
- Xiao, C.-T., Gerber, P. F., Giménez-Lirola, L. G., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2013). Characterization of porcine parvovirus type 2 (PPV2) which is highly prevalent in the USA. *Veterinary Microbiology*, 161(3), 325–330. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.07.038>
- Xiao, C.-T., Giménez-Lirola, L. G., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2012). Increasing porcine PARV4 prevalence with pig age in the U.S. pig population. *Veterinary Microbiology*, 160(3–4), 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.038>
- Xiao, C.-T., Giménez-Lirola, L. G., Jiang, Y.-H., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2013). Characterization of a novel porcine parvovirus tentatively designated PPV5. *PloS One*, 8(6), e65312. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065312>
- Xiao, C.-T., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2013). Molecular evolutionary genetic analysis of emerging parvoviruses identified in pigs. *Infection, Genetics and Evolution*, 16, 369–376. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.03.017>
- Xiao, C.-T., Halbur, P. G., & Opriessnig, T. (2015). Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *Journal of General Virology*, 96(7), 1830–1841. <https://doi.org/10.1099/vir.0.000100>
- Xing, X., Zhou, H., Tong, L., Chen, Y., Sun, Y., Wang, H., & Zhang, G. (2018). First identification of porcine parvovirus 7 in China. *Archives of Virology*, 163(1), 209–213. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3585-9>
- Xu, T., Zhang, Y.-H., Tian, R.-B., Hou, C.-Y., Li, X.-S., Zheng, L.-L., Wang, L.-Q., & Chen, H.-Y. (2021). Prevalence and genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) and type 3 (PCV3) between 2018 and 2020 in central China. *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 94, 105016. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105016>
- Yang, Y., Cheng, Y., Li, N., Cheng, S., Guo, L., Zhou, Y., Zhang, H., Zhang, X., & Ren, L. (2018). Mink Circovirus Can Infect Minks, Foxes and Raccoon Dogs. *Virologica Sinica*, 33(6), 561–564. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0059-5>
- Ye, X., Berg, M., Fossum, C., Wallgren, P., & Blomström, A.-L. (2018). Detection and genetic characterisation of porcine circovirus 3 from pigs in Sweden. *Virus Genes*, 54(3), 466–469. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1553-4>
- Yu, S., Opriessnig, T., Kitikoon, P., Nilubol, D., Halbur, P. G., & Thacker, E. (2007). Porcine circovirus type 2 (PCV2) distribution and replication in tissues and immune cells in early

- infected pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 115(3–4), 261–272. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.11.006>
- Yuzhakov, A. G., Raev, S. A., Alekseev, K. P., Grebennikova, T. V., Verkhovsky, O. A., Zaberezhny, A. D., & Aliper, T. I. (2018). First detection and full genome sequence of porcine circovirus type 3 in Russia. *Virus Genes*, 54(4), 608–611. <https://doi.org/10.1007/s11262-018-1582-z>
- Zádori, Z., Szelei, J., & Tijssen, P. (2005). SAT: A Late NS Protein of Porcine Parvovirus. *Journal of Virology*, 79(20), 13129–13138. <https://doi.org/10.1128/jvi.79.20.13129-13138.2005>
- Zeeuw, E. J. L., Leinecker, N., Herwig, V., Selbitz, H.-J., & Truyen, U. (2007). Study of the virulence and cross-neutralization capability of recent porcine parvovirus field isolates and vaccine viruses in experimentally infected pregnant gilts. *Journal of General Virology*, 88(2), 420–427. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82302-0>
- Zhai, S.-L., Chen, R.-A., Chen, S.-N., Wen, X.-H., Lv, D.-H., Wu, D.-C., Yuan, J., Huang, Z., Zhou, X.-R., Luo, M.-L., He, D.-S., & Wei, W.-K. (2014). First molecular detection of porcine circovirus type 2 in bovids in China. *Virus Genes*, 49(3), 507–511. <https://doi.org/10.1007/s11262-014-1117-1>
- Zhai, S.-L., Zhou, X., Zhang, H., Hause, B. M., Lin, T., Liu, R., Chen, Q.-L., Wei, W.-K., Lv, D.-H., Wen, X.-H., Li, F., & Wang, D. (2017). Comparative epidemiology of porcine circovirus type 3 in pigs with different clinical presentations. *Virology Journal*, 14(1), 222. <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0892-4>
- Zhang, H., Hu, W., Li, J., Liu, T., Zhou, J., Opriessnig, T., & Xiao, C. (2020). Novel circovirus species identified in farmed pigs designated as *Porcine circovirus* 4, Hunan province, China. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(3), 1057–1061. <https://doi.org/10.1111/tbed.13446>
- Zhang, J., Liu, Z., Zou, Y., Zhang, N., Wang, D., Tu, D., Yang, L., Deng, Z., Yang, Y., Jiang, P., & Wang, N. (2018). First molecular detection of porcine circovirus type 3 in dogs in China. *Virus Genes*, 54(1), 140–144. <https://doi.org/10.1007/s11262-017-1509-0>
- Zhang, X., Zheng, C., Lv, Z., Xue, S., Chen, Y., Liu, Y., Huang, X., Luo, G., Yang, X., & Dai, A. (2022). Genetic and epidemic characteristics of porcine parvovirus 7 in the Fujian and Guangdong regions of southern China. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 949764. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.949764>
- Zhang, Y., Zhang, X., Cheng, A., Wang, M., Yin, Z., Huang, J., & Jia, R. (2020). Apoptosis Triggered by ORF3 Proteins of the Circoviridae Family. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 609071. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.609071>
- Zheng, H.-H., Zhang, S.-J., Cui, J.-T., Zhang, J., Wang, L., Liu, F., & Chen, H.-Y. (2020). Simultaneous detection of classical swine fever virus and porcine circovirus 3 by SYBR green I-based duplex real-time fluorescence quantitative PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 50, 101524. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2020.101524>
- Zheng, L., Chai, L., Tian, R., Zhao, Y., Chen, H.-Y., & Wang, Z. (2020). Simultaneous detection of *porcine reproductive and respiratory syndrome virus* and *porcine circovirus* 3 by SYBR Green I-based duplex real-time PCR. *Molecular and Cellular Probes*, 49, 101474. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2019.101474>
- Zimmermann, P., Ritzmann, M., Selbitz, H.-J., Heinritzi, K., & Truyen, U. (2006). VP1 sequences of German porcine parvovirus isolates define two genetic lineages. *The Journal of General Virology*, 87(Pt 2), 295–301. <https://doi.org/10.1099/vir.0.81086-0>
- Zsak, L., Strother, K. O., & Kisary, J. (2008). Partial genome sequence analysis of parvoviruses associated with enteric disease in poultry. *Avian Pathology*, 37(4), 435–441. <https://doi.org/10.1080/03079450802210648>

11 A doktori kutatás eredményeinek közlései

Összesített IF: 45.348

11.1 A doktori értekezés témájában, lektorált és impakt faktoros tudományos folyóiratban megjelent közlemények

Témában szerzett IF: 11.716

- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Woźniak, A., Stadejek, T., Balka, G., 2024. Comparative Prevalence Estimation and Phylogenetic Analysis of Novel Porcine Parvoviruses (PPV2–7) in Hungarian Pig Herds, Transboundary and Emerging Diseases. 5117884, 11. doi:10.1155/2024/5117884, IF: 3.595
- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Balka, G., 2024. First Report of Porcine Parvovirus 8 in Europe: Widespread Detection and Genetic Characterization on Commercial Pig Farms in Hungary and Slovakia. Animals. 14(13):1974. doi:10.3390/ani14131974, IF: 2.937
- Igriczi, B., Dénes, L., Biksi, I., Albert, E., Révész, T., Balka, G., 2022. High Prevalence of Porcine Circovirus 3 in Hungarian Pig Herds: Results of a Systematic Sampling Protocol. Viruses. 14(6):1219. doi:10.3390/v14061219, IF: 4.870
- Igriczi, B., Dénes, L., Balka, G., 2025. A sertéscircovírusok kórtani jelentősége és genetikai jellemzői. Magyar Állatorvosok Lapja. 147./131-145. doi:10.56385/magyallorv.2025.03.131-145, IF: 0.314

11.2 A doktori értekezés témájában tartott előadások, poszterprezentációk tudományos konferenciákon

- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Balka, G.: First report of porcine parvovirus 8 in Europe: widespread detection and genetic characterization on commercial pig farms in Hungary and Slovakia, Power of Viruses, Zadar – előadás, 2024
- Dénes, L., Igriczi, B., Biksi, I., Albert, E., Balka, G.: Detection and phylogenetic characterization porcine circovirus 2 and 3 strains in Hungary, Power of Viruses, Zadar – poszter, 2024

- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Woźniak, A., Stadejek, T., Balka, G.: Újonnan leírt sertésparvovírusok (PPV2–PPV7) vizsgálata Magyarországon, II. Magyar Agrártudományi Doktoranduszok Szimpóziuma (MADOSZ), Budapest – poszter, 2024
- Igriczi, B., Dénes, L., Balka, G.: Újonnan leírt sertésparvovírusok (PPV2–PPV7) elterjedtségének felmérése és genetikai jellemzése Magyarországon, Akadémiai Beszámoló, Budapest – előadás, 2024
- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Woźniak, A., Stadejek, T., Balka, G.: Detection and prevalence of porcine parvovirus 7 (PPV7) in Hungarian pig herds, 14th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), Thessaloniki – poszter, 2023
- Igriczi, B., Dénes, L., Balka, G.: Detection and prevalence of novel porcine parvoviruses (PPV2–7) in Hungarian pig herds, 12th International Congress For Veterinary Virology (ESVV), Gent - poszter, 2022
- Igriczi, B., Dénes, L., Biksi, I., Albert, E., Révész, T., Balka, G.: High prevalence of PCV3 in Hungarian pig herds: results of a systematic sampling protocol, 13th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), Budapest – poszter, 2022
- Igriczi, B., Dénes, L., Biksi, I., Albert, E., Révész, T., Balka, G.: A hármas típusú sertéscircovírus (PCV3) vizsgálata Magyarországon, Akadémiai Beszámoló, Budapest – előadás, 2022
- Igriczi, B., Dénes, L., Schönhardt, K., Balka, G.: Circo- és parvovírusok fertőzésdinamikai és összehasonlító genetikai vizsgálata nagylétszámú sertésállományokban, Akadémiai Beszámoló, Budapest – előadás, 2021

11.3 A doktori értekezés témájához nem kapcsolódó tudományos közlemények, előadások, poszterprezentációk tudományos konferenciákon

A. Publikációk

- Dénes, L., Albert, M., Igriczi, B., Balka, G. 2025. Prevalence estimation of *Pestivirus scrofae* (atypical porcine pestivirus) among Hungarian pig herds and the effects of different sample types on detection rates. Porcine Health Management, **11**, 8. doi:10.1186/s40813-024-00416-3, IF: 3.067
- László, Z., Pankovics, P., Urbán, P., Herczeg, R., Balka, G., Igriczi, B., Cságola, A., Albert, M., Tóth, F., Reuter, G., Boros, Á., 2025. Multiple Co-Infecting Caliciviruses in

Oral Fluid and Enteric Samples of Swine Detected by a Novel RT-qPCR Assay and a 3'RACE-PCR-NGS Method. *Viruses*, 17(2), 193. doi:10.3390/v17020193, IF: 3.613

- Spránitz, P., Sőregi, P., Hegedüs, K., Igriczi, B., Szakács, G., Jemnitz, K., Szabó, P., Galushchak, Y., Mykhailiuk, P. K., Soós, T., 2024. Strain-Release-Driven Modular Synthesis of Oxetane-Based Amide Bioisosteres: Concise, Robust and Scalable Approach, *Angewandte Chemie - International Edition*. 63, e202410554. doi:10.1002/anie.202410554, IF: 16.711
- Igriczi, B., Dénes, L., Czétényi, A., Révész, T., Somogyi, Z., Balka, G., 2024. Prevalence Estimation and Genetic Characterization of Porcine Parainfluenza Virus 1 (PPIV-1) in Hungary and the First Report of the Virus in Slovakia, *Transboundary and Emerging Diseases*. 5534854, 9 pages. doi:10.1155/2024/5534854, IF: 3.595
- Rakvács, Z., Kucsma, N., Gera, M., Igriczi, B., Kiss, K., Barna, J., Kovács, D., Vellai, T., Bencs, L., Reisecker, J. M., Szoboszlai, N., Szakács, G., 2019. The human ABCB6 protein is the functional homologue of HMT-1 proteins mediating cadmium detoxification. *Cellular and molecular life sciences*. 76(20), 4131–4144. doi:10.1007/s00018-019-03105-5, IF: 6.646

B. Előadások

- Igriczi, B., Dénes, L., Balka, G.: A sertés-parainfluenzavírus 1 (PPIV-1) vizsgálata Magyarországon, Akadémiai Beszámoló, Budapest – előadás, 2023
- Dénes, L., Igriczi, B., Balka, G.: Az atipikus sertés-pestivírus magyarországi prevalenciájának vizsgálata, Akadémiai beszámoló, Budapest – előadás, 2023
- Horváth, D. G., Dénes, L., Igriczi, B., Balka, G.: The applicability of different sample types for the detection of atypical porcine pestivirus, 14th European Symposium of Porcine Health Management (ESPHM), Thessaloniki – poszter, 2023
- Dénes, L., Igriczi, B., Balka, G.: Az atipikus sertéspestivírus (APPV) magyarországi prevalenciájának vizsgálata, Akadémiai beszámoló, Budapest – előadás, 2022
- Balka, G., Dénes, L., Igriczi, B., Woźniak, A., Stadejek, T.: Porcine paramyxovirus 1 (species *Porcine Respirovirus 1*) in Europe, 12th International Congress For Veterinary Virology (ESVV), Gent - poszter, 2022

Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Balka Gyulának az iránymutatásáért és szakmai támogatásáért. A közös munka során mindvégig számíthattam értékes tanácsaira és bizalmára. Hálás vagyok, amiért egy ilyen nagyszerű csoport tagjaként kezddhettem meg doktori tanulmányaimat.

Külön szeretném kiemelni Dénes Lillát és Schönhardt Kittit, akik szaktudásukkal, lelkesedésükkel és segítőkészségükkel nemcsak a munkát tették könnyebbé, de a közös hétköznapiakat is emlékezetessé.

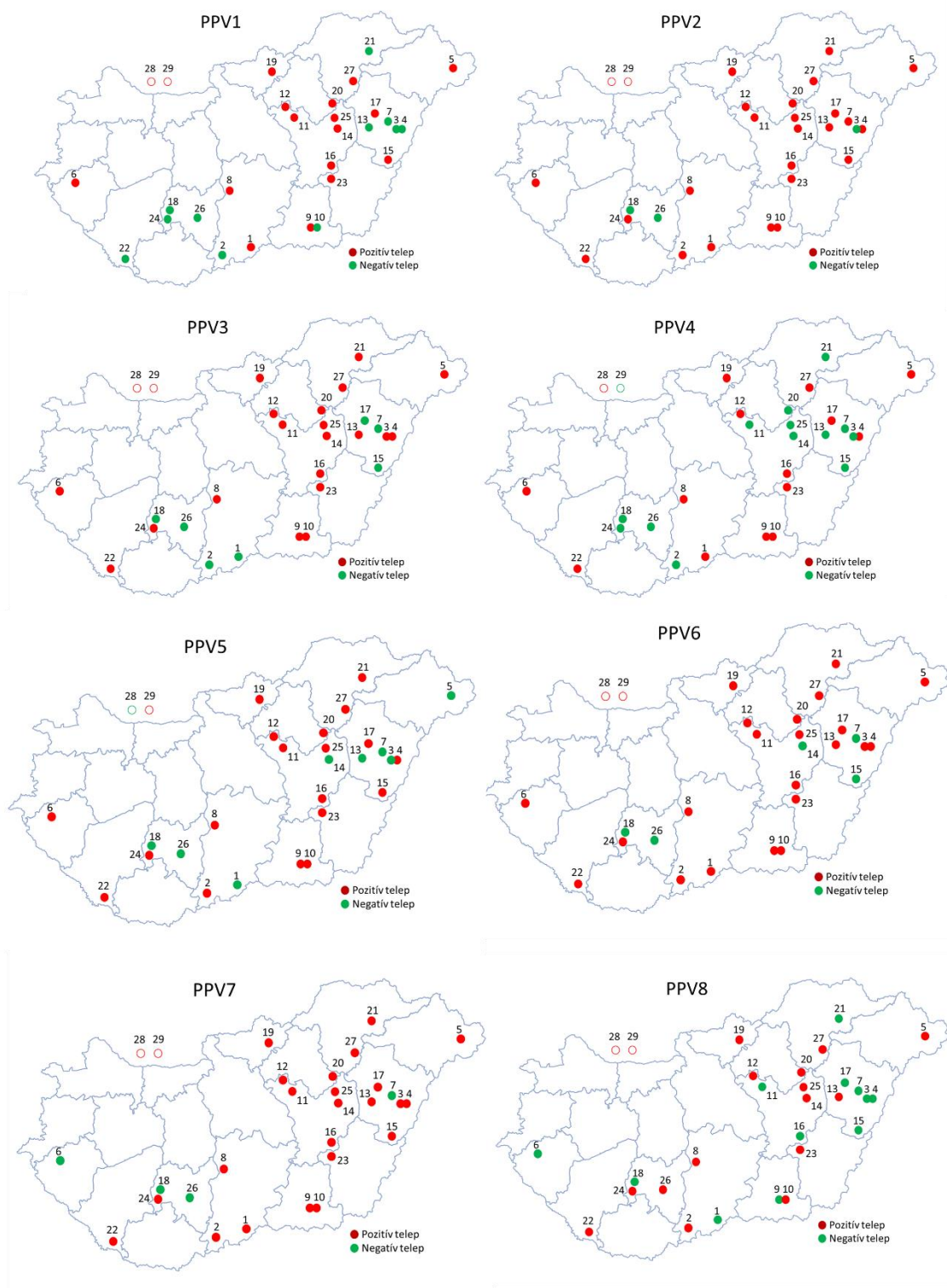
Köszönettel tartozom a Patológiai Tanszék vezetőjének, dr. Mándoki Mírának, a támogatásáért és a szakmai fejlődésem elősegítéséért. Továbbá köszönöm a Patológiai Tanszék minden munkatársának a mindennapi munkámhoz nyújtott segítségüket és együttműködésüket.

Köszönöm a sertéstelepeken dolgozó vezetőknek és állatorvosoknak, valamint a Ceva-Phylaxia Zrt. munkatársainak a mintagyűjtésben nyújtott segítségüket.

Továbbá köszönöm a Varsói Élettudományi Egyetem munkatársainak, Tomasz Stadejeknek és Aleksandra Woźniaknak, hogy segítséget nyújtottak a duplex qPCR reakciók megtervezésében és biztosították a pozitív kontroll mintákat.

Végül, de nem utolsósorban szeretnék köszönetet mondani a családomnak és barátaimnak, akik türelmükkel, támogatásukkal és szeretetükkel mindvégig mellettem álltak.

Mellékletek



1. melléklet. A PPV1–PPV8-pozitív telepek földrajzi elhelyezkedése.

Mindegyik PPV külön térképen ábrázolva, a vizsgálatok időpontjában az adott vírusra pozitív telepek piros, a negatív telepek pedig zöld színnel jelölve láthatók.

2. melléklet. A PCV2–PCV4 és PPV1–PPV8-pozitív savóminták száma telepenként.

Telepek	Savó minták	Savó poolok	PPV1	PPV2	PPV3	PPV4	PPV5	PPV6	PPV7	PPV8	PCV2	PCV3	PCV4
Farm 1	100	20	2	2	0	1	0	1	1	0	0	1	0
Farm 2	100	20	0	4	0	0	0	1	2	3	0	1	0
Farm 3	100	20	0	0	3	0	0	6	3	0	0	0	0
Farm 4	100	20	0	10	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Farm 5	100	20	1	7	2	1	0	0	3	0	6	0	0
Farm 6	100	20	2	2	2	1	0	1	0	0	0	1	0
Farm 7	85	17	0	2	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Farm 8	130	26	1	8	2	2	0	2	4	2	2	5	0
Farm 9	100	20	3	5	2	3	1	11	6	0	12	0	0
Farm 10	100	20	0	1	7	2	2	0	3	1	7	4	0
Farm 11	80	16	4	5	1	0	1	7	0	0	0	9	0
Farm 12	100	20	2	6	10	11	4	0	2	0	7	7	0
Farm 13	100	20	0	0	4	0	0	5	0	2	4	11	0
Farm 14	60	12	3	3	5	0	0	0	0	0	0	3	0
Farm 15	100	20	2	1	0	0	0	0	2	0	0	8	0
Farm 16	160	32	15	15	20	3	5	6	1	0	0	8	0
Farm 17	100	20	0	1	0	1	0	0	2	0	0	5	0
Farm 18	60	12	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Farm 19	100	20	0	8	11	0	4	11	2	0	2	7	0
Farm 20	100	20	3	5	1	0	8	0	2	0	0	8	0
Farm 21	70	14	0	2	2	0	1	1	1	0	0	10	0
Farm 22	100	20	0	10	3	2	1	3	2	0	0	2	0
Farm 23	100	20	0	8	2	4	5	14	2	6	1	10	0
Farm 24	100	20	0	7	4	0	3	0	9	1	0	0	0
Farm 25	90	18	2	3	2	0	5	1	0	0	0	3	0
Farm 26	70	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Összesen	2505	501	40	115	83	31	40	70	49	15	43	110	0
%			8%	23%	17%	6%	8%	14%	10%	3%	9%	22%	0%
Szlovákia:													
Farm 28	100	20	6	7	6	1	0	3	6	0	0	2	0
Farm 29	75	15	1	8	1	0	1	4	2	0	0	4	0
Összesen	175	35	7	15	7	1	1	7	8	0	0	6	0
%			20%	43%	20%	3%	3%	20%	23%	0%	0%	17%	0%

3. melléklet. A PCV2–PCV4 és PPV1–PPV8-pozitív rágókötelminták száma telepenként

Telepek	Rágókötel	PPV1	PPV2	PPV3	PPV4	PPV5	PPV6	PPV7	PPV8	PCV2	PCV3	PCV4
Farm 1	10	3	3	0	1	0	3	6	0	0	0	0
Farm 2	10	0	3	0	0	5	0	9	9	0	3	0
Farm 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 4	12	0	7	4	1	2	3	9	0	0	5	0
Farm 5	10	9	3	8	0	0	1	4	10	4	2	0
Farm 6	10	3	2	10	8	6	5	0	0	0	5	0
Farm 7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 8	10	5	0	3	0	1	10	9	5	0	3	0
Farm 9	10	6	2	4	0	0	9	8	0	10	0	0
Farm 10	10	0	0	10	2	3	1	10	5	1	0	0
Farm 11	8	2	4	0	0	0	5	5	0	0	7	0
Farm 12	9	1	4	3	5	5	1	0	3	0	7	0
Farm 13	10	0	5	5	0	0	1	5	6	7	5	0
Farm 14	10	4	4	10	0	0	0	4	10	1	0	0
Farm 15	10	0	0	0	0	9	0	0	4	0	0	0
Farm 16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 17	10	4	1	0	5	5	0	3	0	4	1	0
Farm 18	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Farm 19	10	6	5	4	6	4	6	1	5	0	3	0
Farm 20	10	3	0	0	0	1	2	0	10	0	0	0
Farm 21	10	0	10	0	0	0	0	8	0	0	8	0
Farm 22	10	0	6	5	0	4	5	4	5	0	4	0
Farm 23	10	10	5	0	0	0	9	10	5	2	6	0
Farm 24	10	0	3	8	0	1	1	10	8	0	0	0
Farm 25	10	6	5	0	0	4	0	8	9	0	0	0
Farm 26	5	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Farm 27	10	1	6	9	5	4	8	10	9	0	4	0
Összesen	228	63	78	83	33	54	70	123	105	30	63	0
%		28%	34%	36%	14%	24%	31%	54%	46%	13%	28%	0%
Szlovákia:												
Farm 28	10	2	7	7	0	0	0	8	1	0	0	0
Farm 29	5	3	4	2	0	2	2	3	2	0	1	0
Összesen	15	5	11	9	0	2	2	11	3	0	1	0
%		33%	73%	60%	0%	13%	13%	73%	20%	0%	7%	0%

4. melléklet. A PCV2–PCV4 és PPV1–PPV8-pozitív herélésifolyadék-minták száma telepenként.

Telepek	Herélési folyadék	PPV1	PPV2	PPV3	PPV4	PPV5	PPV6	PPV7	PPV8	PCV2	PCV3	PCV4
Farm 1	5	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	0
Farm 2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Farm 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 4	10	0	0	2	2	1	5	1	0	0	0	0
Farm 5	5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	5	0
Farm 6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 7	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Farm 8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Farm 9	5	1	0	1	1	0	5	1	0	1	1	0
Farm 10	5	0	0	5	1	1	2	0	0	0	1	0
Farm 11	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
Farm 12	5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4	0
Farm 13	5	0	0	0	0	0	0	2	5	0	5	0
Farm 14	5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
Farm 15	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 17	5	0	0	0	0	0	2	0	0	0	4	0
Farm 18	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Farm 19	5	0	5	2	0	0	5	0	0	2	5	0
Farm 20	3	0	1	0	0	3	0	0	0	0	3	0
Farm 21	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 22	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Farm 23	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
Farm 24	5	0	0	1	0	0	0	1	0	0	5	0
Farm 25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Farm 27	3	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3	0
Összesen	114	2	6	19	4	6	19	9	5	3	68	0
%		2%	5%	17%	4%	5%	17%	8%	4%	3%	60%	0%
Szlovákia:												
Farm 28	5	0	0	4	2	0	5	2	0	0	5	0
Farm 29	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Összesen	9	0	0	4	2	0	5	2	0	0	9	0
%		0%	0%	44%	22%	0%	56%	22%	0%	0%	100%	0%



5. melléklet. A PCV3 ORF2 szekvenciák filogenetikai elemzése.

A PCV3 filogenetikai fát MEGAX programmal, Maximum Likelihood módszerrel, a Tamura–Nei-modell alkalmazásával készítettük, 1000 ismétléssel végrehajtva a bootstrap-elemzést. A GenBank-ban elérhető, válogatott PCV3 törzseket illesztettük az általunk meghatározott magyarországi szekvenciákhoz. A tünetmentes állományokban gyűjtött savómintákból származó szekvenciák piros, a klinikai esetekből meghatározott szekvenciák fekete ponttal jelölve láthatók.