Állatorvostudományi Egyetem

Járványtani-és Mikrobiológiai Tanszék

EHV-1 járványhelyzet Magyarországon a 2021-es valenciai járványkitörés tükrében

EHV-1 epidemic situation in Hungary in the light of the Valencia outbreak in 2021

Készítette: Ozvaldik Bernadett

Témavezetők:

Dr. Korbacska-Kutasi Orsolya, egyetemi docens, Állattenyésztési, Takarmányozástani és Laborállat-tudományi Intézet

Dr. Forgách Petra Éva, egyetemi adjunktus, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

2022

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés....3
2. Szakirodalmi áttekintés....5
2.1. Kóroktan....5
2.2. Járványtan....5
2.3. Kórfejlődés....5
2.4. Tünetek....6
2.4.1. Légzőszervi tünetek....7
2.4.2. Vetélés....7
2.4.3. Idegrendszeri tünetek....8
2.5. Kórjelzés....8
2.6. Gyógykezelés....9
2.7. Védekezés....10
2.8. Vakcinázás....11
2.9. Valencia....12
3. Anyag és módszer....15
4. Eredmények....19
5. Megbeszélés, következtetések....21
6. Összefoglalás....30
7. Summary....31
8. Irodalomjegyzék....32
9. Köszönetnyilvánítás....34

1. Bevezetés és célkitűzés

A ló, társadalmunk fontos része volt és még most is az a mai napig. A ló legkorábbi őse körülbelül 55 millió évvel ezelőtt élt a Földön, háziasítása pedig nagyjából 5000 évvel ezelőttre tehető. Ez magával hozta a lótenyésztés, majd a különböző lovassportok megjelenését. [1] Ahogy változott a világ, és fokozódott a globalizáció, az emberek, állatok és állati termékek mozgása következtében a fertőző betegségek is korábban soha nem látott gyorsasággal kezdtek terjedni. A ló ebből a szempontból azért is különleges, mert azon kívül, hogy egy-egy példány rendkívül értékes, a lovakat még ráadásul nagyon gyakran szállítják országok, kontinensek között is különböző kereskedelmi célból: a lófélék, sperma, valamint embrió nemzetközi kereskedelme jelentősen fellendült. [2] Ezen kívül, talán a leggyakoribb oka a lovak utaztatásának, a különböző eseményeken való részvétel, amiknek a száma az utóbbi 15-20 évben jelentős mértékben megnőtt. Ezek a versenyek, vagy adott esetben fedeztetések, termékenyítések, a lovak több száz kilométeres, gyakran nem csak országok, hanem kontinensek, földrészek közötti szállításával is járnak. Az állatokban folyamatosan lappanghat, vagy szubklinikailag, tünetek nélkül hordozhatják a kórokozókat, ez pedig szállítások alkalmával járványügyi rizikót jelenthet, továbbá ezen fertőző ágensek egy része könnyen terjed légúti váladékkal is, ami az egyik leghatékonyabb módja a betegségek terjedésének. Az elmúlt 40 évben számos járványkitörés volt visszavezethető fertőzött állat(ok) vagy fertőző sperma importjára, amit például lóinfluenza, ló ragályos méhgyulladása, fertőző kevésvérűség, ló fertőző arteritise, vagy herpeszvírus okozott. Ezek a korábban említett tényezők járultak hozzá számos esetben ahhoz, hogy bizonyos országokba behurcolták, vagy újra behurcoltak egy-egy kórokozót. Erre talán a legemlékezetesebb példa az afrikai lópestis vírus, ami 1987-1991-ig súlyos mértékű járványt okozott Spanyolországban. [2] A járványkitörést fertőzött zebrák behozatalával hozták összefüggésbe. [2, 3] Több száz állat pusztult el a járvány következtében [3] és még az 1992-es barceloniai olimpia lovas számainak megrendezése is veszélybe került. [4, 5]

A munkám témájául szolgáló ló herpeszvírus 1-es típusa (Equid alphaherpesvirus-1, EHV-1) által okozott legutóbbi nagyobb mérerű járványkitörés a 2021.01.28-2021.02.21. között Spanyolországban megrendezett CES Valencia Spring Tour díjugrató versenyhez volt köthető, amin több, mint 700 ló vett részt, és végül 18 ló pusztult el a fertőzés következtében. [6]

Azóta Magyarországon is több lovat diagnosztizáltak EHV-1 fertőzéssel. Jelen dolgozat célja a Magyarországon 2021-22-ben előforduló EHV-1 esetek feltérképezése, laboratóriumi, diagnosztikai és járványtani szempontok alapján, valamint az országban jelen lévő, pozitív EHV-1 minták genomszekvencia vizsgálata a 2021 februári CES Valencia Spring Tour lovasversenyen kitörő herpeszvírus járvány tükrében.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Kóroktan

A herpeszvírusok a háziállatok körében széles körben előfordulnak. Több mint 200 állatfajt képesek megbetegíteni, komplex és világszinten elterjedt DNS vírusok. [7] A *Herpesvirales* rendbe tartoznak, amin belül 3 víruscsaládot különítünk el: *Herpesviridae*, *Alloherpesviridae*, *Malacoherpesviridae*. Az ebben a dolgozatban tárgyalt, lovakat megbetegítő *Equid alphaherpesvirus-1* (EHV-1) faj az *Alphaherpesvirinae* alcsaládba, azon belül pedig a *Varicellovirus* nemzetségbe tartozik. [8] További ló herpeszvírusok az EHV-4 (a fertőzés főleg légszőszervi tünetekkel jár), az EHV-2 és 5 (szintén leginkább légzőszervi elváltozásokat okoz), valamint az EHV-3 (a ló ivarszervi kiütésének kórokozója). [9] Az EHV-1 és az EHV-4 szekvenciaelemzése alapján, a két vírus között 55-84%-os DNS-homológia és 55-96% aminosav-homológia van. [10, 11]

2.2. Járványtan

Az EHV-1 egy gazdaságilag igen fontos betegség a lovak és lófélék körében, mivel vetélési hullámot, légzőszervi megbetegedést, és esetenként myeloencehpalopathia-t is okozhat. [9, 10] Ez a vírus a legtöbb lóállományban világszerte megtalálható. [10] A legfontosabb járványtani szempontból releváns jellemzői ennek a vírusnak: a légúti fertőzés nagy számban fordul elő az élet korai szakaszában, látencia alakul ki a fertőzött lovak nagy százalékában, valamint a látens vírus gyakran reaktiválódik, amit később vírusürítés követ, megfertőzve az így vírusürítő lóval érintkező többi állatot. A jelenlegi becslések szerint a lovak 80%-a látensen fertőzött lehet (ez függ a földrajzi régiótól és az életkortól is). A fertőzés átvitele légúti váladékokkal, vetélt magzattal, placentával, esetleg ragályfogó tárgyakkal való érintkezés útján történik. A stressz, szállítás, új ló állományba hozatala, másodlagos fertőzések vagy immunszupresszió mind potenciális rizikófaktorok a betegség kialakulásában. [12]

2.3. Kórfejlődés

Mivel a betegség elsődlegesen inhaláció útján terjed, a fertőzés először a légutak nyálkahártyáján alakul ki. Miután az állat kapcsolatba került a vírussal, az gyorsan a légúti epitheliumba (24-48 óra elteltével már kimutatható) és a kapcsolódó nyirokszövetekbe jut, ahol további replikáció illetve a leukociták fertőzése történik. [10, 12] A lokális nyirokcsomóban történő vírusreplikáció után, a fertőző vírust tartalmazó leukociták a véráramba kerülnek a fertőzést követő 4-10. nap között. [12]

Az EHV-1 számos glikoproteint tartalmaz. A herpeszvírusok glikoproteinjei szerepet játszanak a fertőzés kialakulásában, a sejtfelszíni receptorokhoz való kötődésben, a sejtbe bejutásban és a sejtek közötti terjedésben. A vírusmembrán felszínén lévő glikoproteinek kötődnek a gazdasejt felszínéhez, és lehetővé teszik a vírus és a gazdasejt fúzióját. A replikáció a sejtmagban történik, a protovirion a maghártyából nyeri a burkot. A vírusrészecskék kijutnak a sejtből és a légúti hámsejtek nekrózisát eredményezik. A ló herpeszvírusokra jellemző a magzárványok kialakulása. Miután a vírus bekerült a fehérvérsejtbe, anélkül tud keringeni a szervezetben, hogy a magas antitest-titer semlegesítené. A viraemia révén a vírus további szövetekbe terjed, beleértve a központi idegrendszert is. Az idegi elváltozások a kis erek endotheljének károsodása (vasculitis) miatt kialakuló trombózisra vezethetők vissza, ami károsítja az érintett terület keringését. Ez hypoxiához és végül a neuronsejtek elhalásához vezet, [10] a fehér és kisebb mértékben a szürkeállománnyal szomszédos idegszövetekbe történő vérzéssel. [9] Hasonló mechanizmusok játszanak szerepet a méhlepény károsodásában és a magzat alultápláltságában, ami vetélést okoz. [10] A megfertőződést követő 9-13. nap között a betegség másodlagos megjelenési formáit eredményezi. [10, 12] Ezek az EHV-1 esetében a központi idegrendszeri károsodások (Equine Herpesvirus Myeloencephalopathy, EHM), valamint az EHV-1 okozta vetélés és újszülöttkori elhullás. [12]

Habár pozitív korrelációt állapítottak meg a viraemia időtartama és mértéke, valamint az EHM előfordulása között, és az EHM nem valószínű, hogy viraemia hiányában előfordulna, a viraemiás lovak csak nagyjából 10%-ában alakulnak ki súlyos idegrendszeri tünetek. Így valószínűleg a gazdaszervezet és a vírusténye zők együttes kombinációja határozza meg, hogy a fertőzésnek lesznek-e neurológiai következményei. Az EHV-1 által okozott, vemhesség végén előforduló vetélések előfordulása magasabb (körülbelül 50%), mint az EHM előfordulása. Ez összefügghet a hormonális miliővel és a megváltozott immunrendszerrel a terhesség utolsó trimeszterében. Az EHM és az EHV-1 okozta vetélés kórfejlődése az erek endothel-elváltozásai révén azonban hasonlónak tekinthető: a viraemiát a méhnyálkahártya endothel sejtjeinek fertőzése követi, ami vasculitishez, trombózishoz, microcotyledon infarktushoz, és a vírus transzplacentáris terjedéséhez vezet. [12]

2.4. Tünetek

A legtöbb állat fiatal korában fertőződik, és a kezdeti légzőszervi megbetegedésből való gyógyulás után a lovak nagy része egész életén át látensen fertőzött marad. Mivel az EHV-1, mint a többi herpeszvírus általában, gyenge immunogén, az immunitás csak 3-6 hónapig tart,

így az ellenanyagszint csökkenése lehetővé teszi a vírus látenciából való reaktiválódását. [13] Ha új ló érkezik az állományba, vagy valamilyen stresszhatás éri a lovat, a fertőződés kiújulhat, és az állat orrváladékkal üríti a vírust. [9] A klinikai tünetek közé tartozik az akut láz, étvágytalanság, levertség, savós orrfolyással és levertséggel kombinálva. Vemhes állatok fertőződése esetén vetélés és újszülöttkori elhullás is bekövetkezhet. A vetélés a vemhesség bármelyik szakaszában megtörténhet, mégis úgy tűnik, hogy leginkább a vemhesség késői szakaszában jellemző. A csikók a méhen belül is megfertőződhetnek és el is pusztulhatnak, vagy legyengülten születnek, és ennek következményeként pusztulnak el. [10]

2.4.1. Légzőszervi tünetek

A légúti fertőzés EHV-1 esetén lehet enyhe vagy akár tünetmentes is idősebb lovakban, vagy olyan állatokban, amelyek esetében korábbi fertőződés után látenciába vonult vírus reaktiválódik. [12] Ezzel szemben az olyan fiatal lovakban, amik korábban még nem találkoztak ezzel a kórokozóval, a légzőszervi megbetegedés gyakran súlyos, 2-3 hétig tart, bifázisos láz, levertség, anorexia, köhögés, és kezdetben savós, majd nyálkássá váló orr-és szemváladékozás jellemző. [10, 12, 14] Ezek mellett gyakori a légúti nyirokcsomók lymphadenopathia-ja, ami lymphopeniával, és neutropeniával jár együtt, és több napig tart. Fiatal csikókban az alsó légutak másodlagos bakteriális felülfertőződése, tachypnoe, anorexia és depresszió is megfigyelhető. [12, 14]

2.4.2. Vetélés

Az EHV-1 a vemhesség végi vetélések és koraellés oka lehet, aminek következményeként a csikók születés után hamar elpusztulnak. A vírussal fertőzött kancák látszólag egészségesek, a vetélés a fertőződés vagy a látens vírus reaktiválódása után két héttől-hónapokig terjedő időszak alatt következik be. [12, 14] A vetélés általában a vemhesség utolsó trimeszterében történik, [10, 12, 14] előjelek nélkül, a méhlepény a magzattal együtt távozik, amely megfulladt vagy születés után nem sokkal pusztult el. A leggyakoribbak a sporadikus vetélések egyes kancáknál, de az állományban vetélési hullámok is előfordulhatnak. [9, 12, 14] Ez az állománymanagementtől, immunstátusztól és a vírusos tényezőktől függ. [12] Az EHV-1 okozta vetélésnek a szövődményei nem gyakoriak, a legtöbb kanca a következő tenyészidőszakban egészséges csikót ellik. [12] Előfordulhat, hogy látszólag egészséges csikók születnek, azonban a születés után 2 napon belül megbetegszenek. A tüneteik légzési nehézség, láz, gyengeség, hasmenés és leukopenia, és nem reagálnak jól a kezelésre. Ezek a csikók nagy valószínűséggel perinatálisan vagy születés során fertőződtek. [12, 14]

2.4.3. Idegrendszeri tünetek

Az EHV-1 és a myeloencephalopathia közötti első konkrét összefüggést 1966-ban Norvégiában írták le, amikor egy olyan ló agyából és gerincvelőjéből izolálták a vírust, amely súlyos neurológiai diszfunkció jeleit mutatta. [9]

Az EHM az EHV-1 egy súlyos megjelenési formája, ami a központi idegrendszert érinti. [9] A neurológiai tünetek megjelenését megelőzheti vagy kísérheti felső légúti megbetegedés, láz, étvágytalanság vagy a hátsó végtagok ödémája az idegrendszeri tünetek előtt 2 héttel, bár sok esetben nincs előzménye a súlyos tünetek kialakulásának. [9, 10, 12, 14] A lovak 10-40%-ában alakul ki EHM. [12]. Mind természetes, mind kísérleti körülmények között történő fertőzés esetén, a neurológiai tünetek az fertőzést követő 6-10. nap után jelennek meg, gyakran hirtelen, és 2-3 napon belül lesznek a legsúlyosabbak. [9, 12, 14] A klinikai tünetek az elváltozások elhelyezkedésétől és súlyosságától függően változnak, de a legtöbb lóban a gerincvelő fehérállományának nagy fokú érintettsége látható. [9] A hátsó gerincvelői szakasz sokszor súlyosabban érintett, mint az elülső, ami szimmetrikus ataxiát, a hátsó végtagok gyengeségét, húgyhólyagműködési zavarokat és érzékelési hiányosságokat, izomtónus csökkenést eredményez a gáttájék és a farok területén. [9, 10, 12, 14] Az EHM súlyos eseteiben elfekvés, parézis, bénulás vagy akár tetraplegia is előfordulhat, ami gyakran eutanáziában végződik. Ritkábban az EHM-ben szenvedő lovaknál agykérgi, agytörzsi vagy vestibularis betegség alakulhat ki, amelyet depresszió, elfekvés, fejoldaltartás és ataxia jellemez. [12]

Nincs kielégítő magyarázat arra, hogy az EHV-1 fertőzés egyes kitörései miért járnak nagy számban neurológiai megbetegedéssel, míg mások nem, vagy hogy a különböző lovak miért mutatják az EHV-1 fertőzés különböző klinikai tüneteit a kitörések során. [9]

2.5. Kórjelzés

Az EHV-1 kimutatásának standard módszere a beteg állatból vagy boncolási során vett mintából történő azonosítás PCR-rel (polymerase chain reaction), majd a vírus laboratóriumi izolálása sejtkultúrában. A vírusizolátumok EHV-1 vagy EHV-4 vírusként való azonosítása típus-specifikus PCR-rel érhető el, és kifejlesztettek olyan real-time PCR-teszteket is, amelyek lehetővé teszik az EHV-1 és az EHV-4 egyidejű vizsgálatát. [11] Mivel az EHV-1 egy nagy fertőzőképességű vírus, ami robbanásszerű vetéléssel vagy idegrendszeri megbetegedéssel járó járvány kitörését okozhatja, ezért a gyors diagnosztikai módszerek elengedhetetlenek a betegség kórjelzésében. A laboratóriumok széles körben alkalmazzák a

PCR vizsgálatokat, hiszen ezek érzékenyek és gyorsak. [11, 15] Egy másik eljárás a vírusizolálás, amit például a viraemia kimutatására használnak. Az immunhisztokémiai vagy immunfluoreszcens módszerek is rendkívül hasznosak lehetnek az EHV okozta vetélés gyors diagnosztizálásához és ezek viszonylag egyszerűek is. Számos más, enzimhez kötött immunoszorbens próba (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) vagy nukleinsav-hibridizációs próbán alapuló technika is létezik, azonban ezek használata gyakran csak speciális laboratóriumokban lehetséges. [11, 14, 16]

Mintaként használható orrtampon és alvadásban gátolt vérminta is. Az orrtampon minták kivonata felhasználható DNS kivonásra és ezt követően a vírus PCR-rel történő kimutatására, valamint vírusizolálásra is. Az élő vírus nagyobb eséllyel izolálható, ha a tamponokat a légúti betegség nagyon korai, lázas stádiumában veszik a lovaktól, megfelelő mintavételi tamponnal és módszerrel. [11, 14] Vérminta esetén 20 ml vért kell venni aszeptikus technikával citrátot, heparint vagy (a PCR vizsgálathoz leginkább javasolt) EDTA (etilén-diamin-tetra-ecetsav) véralvadásgátlót tartalmazó csőbe. Mindkét fajta mintát a lehető leghamarabb a laboratóriumba kell szállítani. [11]

Ezen kívül a vírusok lósejtkultúrában izolálhatók vetélt magzatok és korán elhullott csikók méhlepényéből és májából, tüdejéből, lépéből vagy tímuszából, valamint akut EHV-1 fertőzésben szenvedő állatok vérének leukocita frakciójából. Az EHV-4 vírussal ellentétben az EHV-1 különböző, nem lófélékből származó sejteken, például az RK-13 (rabbit kidney) sejtvonalon is szaporodik. Ez az eltérő tulajdonság lehetővé teszi a két vírus elkülönítését. [11]

2.6. Gyógykezelés

Az EHV1 által okozott légzőszervi megbetegedésekre nincs specifikus terápia. A másodlagos bakteriális fertőzések megelőzésére profilaktikus antibiotikumok adhatóak, a magas láz pedig lázcsillapítókkal palliatív módon kezelhető. [14]

A vetélés általában hirtelen következik be, a magzat és a méhlepény teljesen kiürül, ezért csak ritkán fordul elő magzatburok-visszatartás vagy endometritis. Emiatt az elvetélt kancák esetében általában nincs szükség gyógykezelésre. Célszerű azonban fertőtlenítőszerrel lemosni a farkat és a hátsó negyedet, hogy az esetlegesen ott lévő kórokozóktól megszabaduljunk. [14]

Az EHV-1 myelitis vagy myeloencephalopathia gyanújában szenvedő lovak esetében, mivel a betegség lóról lóra terjedhet, az érintett lovak elkülönítése még akkor is elengedhetetlen, ha a

lovak a neurológiai tünetek megjelenésekor nem tekinthetők erősen fertőzőnek. [10] Mivel specifikus kezelés nem áll rendelkezésre, a beteg állatok kezelésében a támogató terápia, valamint a központi idegrendszeri gyulladás csökkentése a cél. [9, 12] A kezelésben fontos a biztonságos környezet megteremtése, a jó higiénia fenntartása, és egyes lovak esetében akár a heveder használata is indokolt lehet. A hólyagműködési zavarral küzdő lovaknál szükség lehet a hólyag gyakori aszeptikus ürítésére, esetleg katéterezésre. [9, 10, 12, 17]

A gyógyszeres kezelés elsősorban a vasculitishez társuló gyulladás csökkentésére és a tromboembólia megelőzésére összpontosít. A nem szteroid gyulladáscsökkentőkkel végzett tüneti kezelés is fontos. Ezek közül a flunixin-meglumint gyakran alkalmazzák a központi idegrendszeri gyulladás kezelésére. A hólyaghurut kialakulásának nagy kockázata miatt, különösen a hólyagkatéterezést igénylő lovaknál, célszerű széles spektrumú antibiotikumokat adni. [12] Kortikoszteroidok, például dexametazon vagy prednizolon adása szintén hasznos, mert szabályozzák a központi idegrendszer endothel sejtjeinek immunválaszát, így csökkentve a vasculitist, a trombózist és az ebből eredő idegi károsodást. [10, 12] Fontos, hogy a lehető legrövidebb kúrát tartsuk fenn. [10]

Az antivirális gyógyszerek inkább elméleti jellegűek az EHV-1 kezelésében. Az aciklovir *in vivo* hatásosságáról az EHV-1 fertőzéssel szemben csak korlátozott adatok állnak rendelkezésre, és ellenőrzött klinikai vizsgálatok még nem készültek. A legújabb eredmények arra utalnak, hogy egy másik nukleozid-analóg, a valaciklovir ígéretes lehet az EHV-1 vírussal fertőzött lovak kezelésében, valamint az vírus által előidézett járványok megelőzésében és megfékezésében. [12]

Az állva maradó, beteg lovak prognózisa jó, és a javulás általában néhány napon belül látható. A súlyos neurológiai tünetekkel küzdő lovak teljes gyógyulásához több hétre, de akár több mint egy évre is szükség lehet. Egyes lovaknál maradandó neurológiai elváltozások maradhatnak, beleértve a vizeletinkontinenciát és az ataxiát. [12]

2.7. Védekezés

Az EHV-1 fertőzés kitörésekor az intézkedések célja a fertőző légúti váladék és a közvetlen érintkezés útján történő terjedés csökkentése, [9] valamint a fogékony lovaknál a stresszes szituációk kerülése és mérséklése, mint például az elválasztás, a hosszú távú szállítás, a különböző országokból származó fiatal lovak, vagy a különböző lóállományok keveredése eladás, kiképzés és versenyzés céljából. [14, 17] A betegség forrásai általában olyan lovak, amelyek nem tünetekben megnyilvánuló módon vírushordozók. [10] Éppen ezért új lovat csak

3 hét karantén és ismételt, negatív eredményű laboratóriumi vizsgálatok után lehet az állományba engedni, és a lovakat célszerű kis csoportokban tartani, főleg a kancákat és a fiatal, szopós csikókat, valamint ezeket külön a vemhes kancáktól is. [14, 17] Mivel ez egy potenciálisan halálos kimenetelű fertőzés, a fertőzöttségre gyanús lovakat azonnal és szigorúan el kell különíteni, amíg az EHV-1-et egy másik laboratóriumi diagnózis megerősítésével ki nem zárják. A tenyészetekben a fedeztetést fel kell függeszteni. A vetélt magzatok és magzatburkok a nagy mennyiségben tartalmazzák a vírust, ezért azokat a megfelelően össze kell gyűjteni és elhelyezni, hogy diagnosztikai vizsgálatra vagy megsemmisítésre lehessen küldeni. A lovak és az emberek forgalmát a telephelyen minimalizálni kell, és a lovak mozgását a fertőzött telephelyre és onnan ki fel kell függeszteni. Bár a járványvédelmi intézkedések gyakran sikeresen megállítják a fertőzés további terjedését, ha a vírust ezek végrehajtása előtt vitték át, az 1-2 héttel később másodlagos megbetegedési hullámot eredményezhet. [9] A lovak csak az utolsó, klinikai tüneteket mutató ló felgyógyulása, vagy a laboratóriumi vizsgálatok után 3 héttel hagyhatják el a területet, és a fertőzött állatokat elszállásoló istállót alaposan kitakarítani és fertőtleníteni kell. [9, 14]

2.8. Vakcinázás

Az EHV-1 elleni vakcinázás az 1940-es évek elején kezdődött az USA-ban, ahol *in vivo* előállított antigéneket használtak. Ezekről azonban kiderült, hogy hatástalanok. Az 1970-es évektől inaktivált, adjuvánst tartalmazó vakcinákat használnak, amik világszerte eredményesnek bizonyultak. Jelenleg számos, mono-és polivalens vakcina is elérhető a világon. Európában ezek közül egy, EHV-1 és EHV-4-et is, valamint adjuvánst tartalmazó vakcina van forgalomban, ami a vetéléses forma ellen véd. A vemhes kancákat a vemhesség ötödik, hetedik és kilencedik hónapjában oltják. [16] Azonban a forgalomba lévő vakcinák egyike sem blokkolja megbízhatóan a fertőzést, a viraemia vagy a látencia kialakulását, és még a betegség ellen rendszeresen vakcinázott lovaknál is megfigyelték az EHM kialakulását. [9, 10, 12] Továbbá a vakcinázást az EHM kialakulásának lehetséges kockázati tényezőjeként említik, bár erre nincsenek meggyőző bizonyítékok. A vírusürítés azonban jelentősen csökken a vakcinázott lovaknál, emiatt indokoltnak tűnik a fertőzés szempontjából veszélyeztetett lovaknak booster vakcinát adni. [12] Van esély arra, hogy új, továbbfejlesztett vakcinák már hatékonyak lesznek EHM ellen is, de erre még várni szükséges. [18]

A nyájimmunitás fokozásával remélhetőleg csökken a populációban keringő fertőző vírus szintje, és ezáltal az ott élő egyes lovak megbetegedésének kockázata. Ezzel azt is

feltételezzük, hogy a legtöbb kifejlett ló immunrendszere már felkészült az EHV-1 antigénekre korábbi fertőzés vagy vakcinázás révén, és ezért az egyszeri vakcinaadag a beadást követő 7-10 napon belül újra beadható booster vakcina formájában. Míg a valószínűleg fertőzött lovak emlékeztető vakcinázása nem ajánlott, ésszerű a nem fertőzött lovak és az újonnan az istállóba érkezők emlékeztető vakcinázása, ha az előző 90 napban még nem kaptak EHV-1 elleni védőoltást. [12]

A Nemzetközi Lovas Szövetség (FEI: Fédération Equestre Internationale) a jelenleg rendelkezésre álló adatok alapján, figyelembe véve a Valenciában történt eseményeket is, nem támogatja a vakcinázás kötelezővé tételét mindaddig, amíg új, továbbfejlesztett vakcinákat nem gyártanak és azok nem állnak széles körben rendelkezésre. Ha azonban a tudományos bizonyítékok alátámasztják és az oltóanyagokat a gyógyszeripar kellőképpen fejleszteni tudja, akkor a FEI újra fogja értékelni, hogy kötelezővé tegye-e a vakcinázást. A legfontosabb inkább a megelőzés, a megfelelő biológiai biztonsági protokollok létrehozása a vírusfertőzésekkel szemben, függetlenül attól, hogy végül hogyan döntenek a vakcinázás szükségességéről. Az oltás nem nyújt teljes védelmet a fertőzéssel szemben, és kötelezővé tétele, azon felül, hogy az jelentős kiadással is járna a lótulajdonosok körében, nem szüntetné meg a szigorú biológiai biztonsági intézkedések és szankciók szükségességét. [18]

2.9. Valencia

Európa évtizedek óta egyik legsúlyosabb EHV-1 járványkitörése a 2021 februári International CES Valencia Spring Tour versenyen történt. 2021. február 20-án a FEI állatorvosai 20 lázas lovat jelentettek, valamint azt, hogy az előző vasárnap (február 14-én) a versenyhelyszínt elhagyó lovak közül 4 betegedett meg, és egynek neurológiai tünetei voltak, aminél a PCR vizsgálat az EHV-1 vírust mutatta ki. A verseny hátralévő részét ezután felfüggesztették. Másnapra a lázas lovak száma 40-re nőtt, azonban sokan elhagyták a helyszínt, több ló egészségügyi bizonyítvány nélkül. Mind a 752 lovat, ami február 1-je óta Valenciában versenyzett, a FEI zárolta az adatbázisában, így ezek a lovak nem indulhattak semmilyen FEI-rendezvényen, amíg nem teljesítették a szükséges egészségügyi vizsgálati követelményeket. A spanyol állategészségügyi hatóságok február 22-én karantént rendeltek el a helyszínen. Az ott maradt több mint 150 lóból 72 mutatta az EHV-1 fertőzés klinikai tüneteit, és a tesztelt 47 lóból 17 lett pozitív a vírus jelenlétére. A betegek közül 3 lovat kórházba szállítottak neurológiai tünetekkel. Ezenkívül négy olyan esetet jelentettek, amikor a lovak röviddel hazatérésük után megbetegedtek, valamint két lehetséges további, Valenciára visszavezethető járványkitörésről számoltak be egy harmadik országban. Március 1-jére 4 ló pusztult el a

betegségben, 84 helyszínen lévő ló mutatott klinikai tüneteket és állt gyógykezelés alatt, és további 11 lovat kezeltek külső klinikákon (9-et Valenciában és kettőt Barcelonában). Időközben Franciaországban, Belgiumban és Németországban is megerősítették a járvány kitörését, ami további aggodalmat váltott ki, mivel az EHV-1 ezen törzse különösen gyorsan terjed. További két ló pusztult el, egy a barcelonai állatkórházban, egy pedig Németországban, és mindkét egyed korábban járt Valenciában. Március 9-re az elhullott lovak száma 11-re emelkedett, végül összesen 18 ló pusztult el a versenyen vagy annak következményeként. [19] Bár a többi európai uniós ország gyorsan karantént rendelt el, hogy megakadályozzák a vírus terjedését, ettől függetlenül az EHV-1 törzs kiszabadult Spanyolországból és 9 másik országban, köztük Belgiumban és Franciaországban is járványkitörést okozott. Ebben a két országban a vírus genomszekvenálása is megtörtént. Ennek az eredménye azt mutatja, hogy a valenciai verseny volt a fertőzési forrás. [20]

Az EHV-1 járványkitörés nagy változásokat hozott. A FEI szigorította a versenyre utazás feltételeit, és az általános járványvédelmet is a versenyhelyszíneken. A több mint 400 ló részvételével zajló, több napos versenyekre (tehát ahol a lovak éjszakára közös istállóban vannak elszállásolva) kötelező a negatív PCR teszt, legkorábban 96 órával a versenyre érkezés előtt, továbbá ezt minden olyan lónál is el kell végezni, ami repülővel utazik a versenyhelyszínre. A mintákat csak engedéllyel rendelkező állatorvos veheti, és az eredményeket csak a FEI által elfogadott külső laboratóriumból fogadják el – Magyarországon ez a NÉBIH-ÁDI mellett az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virológia laboratóriuma. A lovakat a versenyre érkezéskor is megvizsgálják, mielőtt belépnének az istállók területére, majd a verseny alatt naponta kétszer monitorozzák a testhőmérsékletüket is. A többhetes versenysorozatok esetén, minden hétfőn PCR teszteket végeznek, függetlenül attól, hogy a ló versenyzik-e azon a héten, vagy nem. [21]

Ennek eredményeképpen az itthoni vizsgálatok is szigorodtak. Az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virológia laboratóriumát a Magyar Lovassport Szövetség azzal a kéréssel kereste meg, hogy az FEI szabályozásnak megfelelően végezze el a versenyen induló lovak mintáinak vizsgálatát, majd ezt követően már a gyanús esetekből is érkeztek minták a laboratóriumba. Jelen dolgozat ezeknek a mintáknak a vizsgálatából, feldolgozásából és elemzéséből áll. A kiindulási hipotézisünk az, hogy van összefüggés a Valenciában, majd onnan utána Európában keringő vírustörzs, és a Magyarországon jelenlévő között.

3. Anyag és módszer

A laboratóriumba a vizsgálati időszakban (2021 februártól 2022 júliusig) 460 minta érkezett, ezek közül 445 minta vizsgálata a vírus jelenlétére, míg 15 minta vizsgálata a fertőzés igazolására szolgáló ellenanyag-kimutatásra irányult. A vizsgálat oka alapján csoportosított mintaszámokat az 1. táblázat foglalja össze:

Vizsgálat célja	Lovak száma
verseny	183
fedeztetés	4
tartáshely változás	9
import ló	3
gyanús/tüneteket mutató ló	94
nincs adat	167

1. *táblázat: A laboratóriumba érkezett minták csoportosítása a vizsgálat oka szerint.*

Ebből jól látszik, hogy a legtöbb minta (183) a versenyek előtti kötelezően elvégzendő vizsgálati célból érkezett, a második legtöbb pedig vagy gyanús (például pozitív ló volt az állományban, ezért az összes, lovardában tartózkodó lóból küldtek mintát), vagy már tüneteket is mutató lóból származott. 167 esetben nem volt adatunk a vizsgálat okát illetően.

A vizsgált 460 mintából, a kórelőzmények alapján 46 ló vakcinázottságáról van információnk, amit a 2. táblázat tartalmaz. A többi állatról, ha részesült is védőoltásban, nem áll adat a rendelkezésünkre.

Vakcinázás időpontja	Lovak száma
nem volt oltva	15
>6 hónapja nem volt oltva	14
<6 hónapja volt oltva	17

2. táblázat: A lovak csoportosítása a vakcinázás időpontja alapján.

A 14 ló közül, ami több, mint 6 hónapja nem kapott EHV-1 elleni védőoltást, 10 egyednél jelentkeztek idegrendszeri tünetek, bár a PCR teszt negatív lett. A 6 hónapon belül oltott lovak közül 1 ló a korábbi, rendszeres vakcinázás ellenére is pozitívnak bizonyult, 3 másik oltott ló viszont tünetmentes maradt. Ezen kívül 2 olyan állat volt, amelynél vetélés jelentkezett, szintén korábbi vakcinázás ellenére, bár a PCR vizsgálat ebben az esetben is negatív eredményű volt.

A laboratóriumba rendszerint orrtampon minta és/vagy alvadásban gátolt (EDTA) vérminta érkezett. Az orrtamponokra, amennyiben a mintát küldő állatorvos ezt elmulasztotta, 1,5 ml foszfátsókkal pufferolt fiziológiás sóoldatot (phosphate-buffered saline, PBS) mértünk, ezzel néhány órán (2-12 óra) át hűtőhőmérsékleten (kb. 4 °C) inkubáltuk. Ez után a tamponból az

orrváladékot vortex segítségével kimostuk, a folyadékot 1,5 ml-es, egyedileg jelölt mikrocentrifuga csövekbe átmértük, és ebből nukleinsavat izoláltunk. A maradék mintát -80 °C-on tároltuk.

Az alvadásban gátolt vérmintát 1860×g gyorsuláson 10 percig centrifugáltuk, majd a fehérvérsejt (buffy coat) réteget szeparáltuk. A szeparált fehérvérsejteket 10 ml steril vízbe kevertük, hogy a fehérvérsejtek vörösvérsejtekkel összehasonlításban fokozottabb hipozmotikus rezisztenciáját kihasználva, a vörösvérsejtek haemolízise révén a szeparált buffy coat réteget a vörösvérsejtektől megtisztítsuk. 40 másodperc elteltével 1 ml 10× koncentrációjú PBS-t kevertünk az elegybe az izozmotikus állapot helyreállítására, majd az így nyert folyadékot ismét 1860×g gyorsuláson 10 percig centrifugáltuk. Ez követően a felülúszót eltávolítottuk, a cső aljára leülepedett fehérvérsejteket pedig 1,5 ml PBS-ben reszuszpendáltuk, és egyedileg jelölt mikocentrifuga csövekbe áttöltöttük. Abban az esetben, ha a fehérvérsejt-üledéket túlzottan véresnek találtuk, a hipozmotikus sokkolást megismételtük. A reszuszpendált fehérvérsejteket nukleinsav-izolálásra használtuk, a maradék mintát -80 °C-on tároltuk.

Abban az esetben, amikor egy lóból orrtampon- és alvadásban gátolt vérminta is érkezett, költségcsökkentési szempontok alapján a két mintát együtt (poolozva) vizsgáltuk. A nukleinsav-tisztítás során 200 µl mintához 20 µl proteináz K-t adtunk a kapszid felnyitására, 200 µl lízis puffert, hogy megfelelő környezetet biztosítsunk az enzimnek, majd ezt 56 °C-on 10 percig inkubáltuk. Ez után 200 µl 100%-os etanolt használtunk kicsapásra. Ezután a teljes térfogatot filteres csőbe pipettáltuk és 6000×g fordulatszámon 1 percig centrifugáltuk, amíg a DNS a filterhez kötődött. Ezután 500 µl AW1 mosópuffert alkalmazva megtisztítottuk a filtert a fehérjéktől, és újabb 6000×g gyorsuláson további 1 percig centrifugáltuk. Ezt követően újabb mosás következett 500 µl AW2 mosópufferrel, de a centrifugálás most 20000×g fordulatszámon 3 perig történt. A következő lépésben 200 µl eluláló puffert pipettáztunk a filterre, ami eltávolítja a DNS-t a filterből, majd újabb 1 perces centrifugálás következett 6000×g gyorsuláson. Az utolsó lépésben a DNS szuszpenziót jelölt mikrocentrifuga csőben összegyűjtöttük és -80 °C-on tároltuk a vizsgálat megkezdéséig.

A real-time polimeráz láncreakciót az OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter 3.5.9. ajánlásai alapján végeztük. [16] A reakcióban használt EHV-1 specifikus primerek és probe szekvenciái a következők voltak: EHV 1 Forward: 5'-GGG-GTT-CTT-AAT-TGC-ATT-CAG-ACC-3', EHV 1 Reverse:5'-GTA-GGT-GCG-GTT-

AGA-TCT-CAC-AAG-3', EHV1gB/probe: {FAM}TCT-CCA-ACG-AAC-TCG-CCA-GGC-TGT-ACC{BHQ1}. A PCR vizsgálathoz a Luminaris Probe qPCR Master Mix kitet (Thermo Scientific™, Cat. No.: K0952) alkalmaztuk a gyártó utasításai szerint. Pozitív kontrollként egy, a laboratórium törzsgyűjteményében megtalálható EHV-1 izolátumból tisztított DNS-t, negatív kontrollként pedig steril vizet használtunk a reakciókban. A reakciót Rotor-Gene Q 5plex Platform (Qiagen, Cat. No. / ID: 9001570) real-time PCR gépben végeztük, az eredményeket a PCR készülék gyártója által biztosított Q-Rex Software segítségével értékeltük ki.

Az erős PCR-pozitivitást mutató minták esetében megkíséreltük a vírus szövettenyészeten való izolálását a OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals Chapter 3.5.9. fejezetében írtaknak megfelelően.

A szerológiai vizsgálatokra érkezett natív vérmintákat 1860×g gyorsuláson 10 percig centrifugáltuk, majd a savót szeparáltuk és egyedileg jelölt mikrocentrifuga csövekben a vizsgálatok elvégzéséig -20 °C-on tároltuk. Összesen 14 lóból származó natív vérmintát vizsgáltunk, ezek közül egy esetben savópár-vizsgálatot végeztünk.

A vírusneutralizációs tesztet (VNT) szintén az OIE Manual leírása alapján végeztük. A VN tesztekhez használt vírustörzs egy, a laboratórium törzsgyűjteményében található EHV-1 izolátum volt, míg pozitív kontroll savóként egy évekkel korábbi esetből származó, EHV-1 elleni specifikus immunglobulinokat tartalmazó mintát használtunk.

Minta	Cső	Minta típusa	Ct érték	Megjegyzés	Tünetek
HUN-1	197/2021 T	orrtampon	27,87		láb ödéma 1,5 héttel egy spanyolországi versenyről való visszaérkezés után
HUN-2	197/2021 L	leukocita	32,81		
HUN-3	10/2022/1T	orrtampon	27,96	PCR: együtt (poolozva)	idegrendszeri tünetek
HUN-4	10/2022/1L	leukocita			
HUN-5	10/2022/2T	orrtampon	29,05	PCR: együtt (poolozva)	idegrendszeri tünetek
HUN-6	10/2022/2L	leukocita			
HUN-7	10/2022/3T	orrtampon	29,26	PCR: együtt (poolozva)	idegrendszeri tünetek
HUN-8	10/2022/3L	leukocita			
HUN-9	10/2022 RK	fertőzött RK (rabbit kidney) sejtek	-	PCR-t nem végeztek	10/2022/3-ból izolált vírus; RK sejt törmeléket és -nukleinsavat tartalmaz
HUN-10	10/2022/4T	orrtampon	28,65	PCR: együtt (poolozva)	idegrendszeri tünetek
HUN-11	10/2022/4L	leukocita			
HUN-12	28/2022T	orrtampon	34,85	PCR: együtt (poolozva)	idegrendszeri tünetek
HUN-13	28/2022L	leukocita			
HUN-14	61/2022T	orrtampon	36,41	a leukocyta minta negatív volt	idegrendszeri tünetek

3. táblázat: A pozitív minták genomszekvenálásának eredményei. A 10, 28 és 61/2022 csőszámú minták ugyanattól az állatorvostól, azonos járványkitörésből érkeztek. A Ct érték a real-time PCR eredményére utal: minél alacsonyabb, a minta annál több vírusspecifikus DNS-t tartalmazott.

A pozitív minták további elemzéséhez az Irish Equine Centre segítségét kértük, az együttműködés keretében 14 mintát (egyes esetekben azonos lóból több mintát is) adtunk át teljes vagy részleges genom szekvenálásra. Ezeknek a mintáknak az adatait a 3. táblázat foglalja össze. A szekvenálás pontos mikéntjéről nem kaptunk információt a partnerünktől.

4. Eredmények

A laboratóriumba a vizsgálati időszakban (2021 februártól 2022 júliusig) érkezett 460 minta 445 minta vizsgálata a vírus jelenlétére irányult, azaz real-time polimeráz láncreakciót végeztünk, míg 15 minta vizsgálata a fertőzés igazolására szolgáló ellenanyag-kimutatásra irányult (vírusneutralizációs teszt). A vizsgált állatok közül 7 ló bizonyult real-time PCR reakcióval pozitívnak, és egy kétesnek. Ezeket a 4. táblázat tartalmazza.

Minta azonosító	PCR vizsgálat eredménye	Tünetek
44/2021	kétes, néhány nappal később negatív	nincs információ
197/2021	pozitív	láb ödéma 1,5 héttel egy spanyolországi versenyről való visszaérkezés után
10/2022	pozitív	hátsó testfél gyengeség, könnyezés, köhögés
10/2022	pozitív	nincs információ
10/2022	pozitív	decemberben edzőtáborban volt Kaposváron, hátsó testfél gyengeség
10/2022	pozitív	január 25-én elfeküdt, február 3-án hevederbe tették. Március 3-án még mindig a hevederben volt, nem tudott magától felállni
28/2022	pozitív	40,1°C-os láz, orrfolyás, gyenge, erőtlen, a bakteriológiai vizsgálat Streptococcus equi ssp. equi fertőzést igazolt
61/2022	pozitív	nincs információ

4. táblázat: A pozitív illetve kétes PCR vizsgálatok, valamint a tünetek. A 10, 28 és 61/2022 csőszámú minták ugyanattól az állatorvostól, azonos járványkitörésből érkeztek.

Laboratóriumi iktatószám	Minta	Cső	Minta típusa	Neurológiai marker	Valencia marker	U_L klád	Tünetek
22VR001986	HUN-1	197/2021 T	orrtampon	Nem	Nem (és nem 10-es klád)	7	láb ödéma 1,5 héttel egy spanyolországi versenyről való visszaérkezés után
22VR001987	HUN-3	10/2022/1T	orrtampon	**Igen D752**	Nem	**13**	idegrendszeri tünetek
22VR001988	HUN-5	10/2022/2T	orrtampon	**Igen D752**	Nem	**13**	idegrendszeri tünetek
22VR001989	HUN-9	10/2022 RK	fertőzött RK sejtek	**Igen D752**	Nem	**13 (szintén a WGS által)**	10/2022/3-ból izolált vírus; RK sejt maradékot és nukleinsavat tartalmaz
22VR001990	HUN-10	10/2022/4T	orrtampon	**Igen D752**	Nem	**13**	idegrendszeri tünetek

5. táblázat Az Irish Equine Centre által elvégzett genomszekvenálás eredményei

Az Irish Equine Centre által végzett genomszekvenálás 4 esetben csak részlegesen, míg a HUN-9 azonosítójú, szövettenyészeten elszaporított vírusizolátum esetén a teljes genom szintjén sikeres volt. Az 5. táblázatban összefoglalt, az Irish Equine Centre által küldött adatokból látható, hogy a sikeresen megszekvenált minták közül egy minta egy 2021-es esetből, míg 4 minta egy 2022-es járványkitörésből származik, és a szekvenálás ennek megfelelő genetikai hasonlóságokat és különbségeket tárt fel. A vírusizolálás egy minta (10/2022/3; HUN-9) esetében volt sikeres, azonban a többszöri passzálás ellenére is csak alacsony titerű víruskoncentrációt sikerült elérni.

A VN tesztek eredményeit a 6. táblázatban foglalom össze. A vizsgált vérminták közül mindössze egyet találtunk EHV-1 elleni ellenanyagokra negatívnak, minden más esetben kimutatható volt a vírus elleni immunglobulin.

Minta azonosító	VN teszt savó 1 titer	VN teszt savó 2 titer	Megjegyzés
170/2021	1:5,7	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt
171/2021	1:16	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt, idegrendszeri tünetek, erős hátsó végtag ataxia
201/2021	<1:2 (negatív)	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt, enyhe hátsó végtag ataxia, WNV IgG ELISA pozitív
197/2021 (1. minta) és 210/2021 (2. minta)	1:11	1:23	2 héttel korábban PCR pozitív, vakcinázva 2021. január-márciusban, 3 napig láz, azóta tünetmentes
214/2021	1:128	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt, hátsó testfél gyengeség, WNV ELISA pozitív
234/2021	1:4	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt, hátsó testfél gyengeség, WNV ELISA pozitív
235/2021	1:5,7	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcinázva nem volt, hátsó testfél gyengeség, WNV ELISA negatív
13/2022	1:45	nem vizsgáltuk	PCR negatív, vakcina 2021. december, vetélés
38/2022/I	1:32	nem vizsgáltuk	PCR negatív
38/2022/K	1:362	nem vizsgáltuk	PCR negatív, étvágytalanság, levertség
38/2022/Ga	1:23	nem vizsgáltuk	PCR negatív
38/2022/P	1:28	nem vizsgáltuk	PCR negatív
38/2022/E	1:91	nem vizsgáltuk	PCR 11 nappal korábban pozitív, a vérminta vételekor negatív
38/2022/G	1:512	nem vizsgáltuk	PCR negatív, tompa, bizonytalan járás, jó étvágy, láztalan, 3 nap múlva tünetmentes

6. táblázat: A vírusneutralizációk eredményei. A 38/2022 azonosítójú minták ugyanattól az állatorvostól, azonos járványkitörésből érkeztek, mint a korábbi táblázatokban szereplő 10, 28 illetve 61/2022 csőszámú minták.

5. Megbeszélés, következtetések

TDK munkámban az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virológia laboratóriumába 2021. februártól EHV-1 vizsgálatra érkezett mintákat dolgoztam fel. Ezek egy része a 2021. márciusában Valenciában megrendezésre került lovasversenyt követően, a FEI előírások miatt, valamint klinikai tünetek megfigyelését követően érkeztek a laboratóriumba. A minták többsége látszólag egészséges állatból származott, ezek vizsgálata versenyen induláshoz volt szükséges és arra irányult, hogy a versenyre utazó ló a mintavétel időpontjában vírusürítő-e vagy sem. Ezek a minták a real-time PCR vizsgálattal negatívnak bizonyultak, azonban a tulajdonosnak vagy kezelő állatorvosnak küldött eredményközlő levélben a következő megjegyzés szerepelt: „A negatív eredmény az aktuális mintára vonatkozik, nem igazolja a (látens) fertőzöttségtől való mentességet.”. Erre a kitételre azért volt szükség, mert a tünetmentes állatból származó orrtampon vagy leukocyta mintában nem csak a fertőzéstől való mentesség esetén, hanem a látencia időszaka alatt sem mutatható ki a vírus. A laboratórium ezzel jelezte a tulajdonos, a kezelő állatorvos és a verseny-rendezőség számára, hogy a vizsgálati módszernek a vírus és a fertőzés tulajdonságai miatt vannak korlátai, emiatt negatív eredmény esetén is fel kell készülni arra, hogy az állat utaztatásával járó stressz miatt a ló szervezetében esetlegesen látensen jelen levő vírus reaktiválódhat, és a vizsgálatot követően is megkezdődhet a vírusürítés, azaz a lovak egészségi állapotát a következő időszakban (verseny időtartama, tulajdonos-váltás esetén karantén ideje alatt) folyamatosan monitorozni kell és a járványügyi szabályokat be kell tartani.

A vizsgált időszakban PCR vizsgálatra 41 minta tüneteket mutató lovakból érkezett, valamint 53 minta a tüneteket mutató lovakkal együtt tartott más, látszólag egészséges lovakból származott. A vizsgált időszakban így 3 járványkitörést figyeltünk meg. Ezek közül egy 2021. július végén történt, ahol egy pilisjászfalui istállóban egy 10 éves kanca 1,5 héttel egy spanyolországi versenyről való hazatérés után kezdett tüneteket mutatni. A klinikai tünetek között idegrendszeri tüneteket nem, csupán lábödémát figyeltek meg, a kezelő állatorvos a néhány hónappal azelőtti valenciai járványkitörés és a ló spanyolországi versenyen való részvétele miatt döntött nem csak a klinikailag beteg, hanem az istállóban a közvetlen közelében levő állásokban tartott 3 másik ló laboratóriumi vizsgálata mellett. Három nappal az után, hogy a beteg ló PCR vizsgálata EHV-1-re pozitívnak bizonyult, az istállóban levő további 48 állatból is mintát küldött a kezelő állatorvos a fertőzés esetleges terjedésének vizsgálatára. Az ebben a járványkitörésben vizsgált összesen 52 ló közül mindössze egy ló

mintáját találtuk pozitívnak, a klinikai tünetek enyhék voltak, a 10 nappal később vett második minta PCR negatívnak bizonyult, valamint a savópárral végzett VN tesztben a két mintavétel között enyhe (1. minta 1:11, 2. minta 1:23) ellenanyag-titer emelkedést mutattunk ki. Mindezek alapján gyanítható, hogy a ló látensen fertőzött volt, a versenyen való részvétel okozta stressz miatti immunszuppresszív állapot elősegíthette a vírus reaktivációját, azonban a vírusürítés alacsony titerű volt, és a tünetek megjelenése utáni azonnali járványügyi intézkedések (elkülönítés) is segítették a fertőzés istállón belüli terjedésének elkerülését.

A beteg ló első mintáját az Irish Equine Centre-vel együttműködésben genomanalízisnek vetettük alá. A szekvenálás eredménye szerint a vírus genomja nem tartalmazta a súlyos neurológiai tünetekre hajlamosító (D752) genetikai markert, ami korrelál a lovon megfigyelt enyhe, nem idegrendszeri tünetekkel. Ezen kívül a szekvenálás alapján kijelenthető, hogy az esetből kimutatott vírus nem mutatott genetikai hasonlóságot a 2021. márciusi valenciai járványkitörésből kimutatott vírussal, így járványtani összefüggést a két spanyolországi verseny, valamint a 2021. júliusi verseny utáni járványkitörés között nem találtunk, ez is alátámasztja a vírus reaktivációjára vonatkozó elméletünket.

Erről a lóról tudjuk továbbá a kórelőzmény alapján, hogy kétszer (januárban és márciusban) részesült EHV-1 elleni vakcinában, viszont júliusban, azaz 4 hónappal a második vakcinázást követően mégis pozitív lett a PCR tesztje. Ez a megfigyelés megfelel Kydd és munkatársai 2006-ban pubikált cikkében írtakkal, mely szerint az EHV-1 elleni immunitás 3-6 hónapig áll fenn, így az ellenanyagszint csökkenésével a látens vírus reaktivációja és klinikai tünetek megjelenése, fertőzéstől mentes lóban pedig a fertőzésre való fokozott fogékonyságra lehet számítani. A klinikai tünetek megjelenésekor vett vérmintában mért 1:11 ellenanyag-titer herpeszvírusok esetében nem számít kirívóan alacsonynak, a 4 hónappal azelőtti vakcinázás által indukált ellenanyag-titerként értékelhető, és a vírus esetlegesen enyhe virulenciája és alacsony terjedőképessége mellett magyarázhatja, nem csak az enyhe tüneteket, hanem azt is, hogy a fertőzés – az ellenanyagok miatti alacsony mértékű vírusürítés miatt – nem terjedt tovább az istállóban. Ez a feltételezés egyetértésben van Pusterla és mtsai 2014-ben publikált cikkében írtakkal, [3] és alátámasztja, hogy a lovak rendszeres EHV-1 elleni vakcinázása járványügyi szempontokból kiemelten fontos.

A második laboratóriumunkban igazolt járványkitörés 2022. január 24-én egy mohácsi istállóban indult, ahol T lónál penis prolapsust, hátsó testfél gyengeséget, inkontinenciát, a farok területén izomtónus csökkenést tapasztaltak. Másnapra ez a ló, valamint még 2 másik (F

és Z) elfeküdt és további két állatnál (C és D) jelent meg hátsó testfél gyengeség. Az egyik elfekvő lovat, F-et kórházi kezelésre szállították, az ott maradt másik kettőt pedig heveder segítségével támogatták. 4 lóból (D, P, C, Z) január 26-án orrtampon, illetve EDTA-t tartalmazó csőbe vérmintát vettek laboratóriumi vizsgálatra, és a PCR-teszt két nap múlva mindegyik állatnál kimutatta a pozitív EHV-1 fertőzöttséget. Január 26-án forgalmi korlátozást rendeltek el a telepen. Két nap múlva, T már tartósan képes volt állni és sétálni is. Február 3-án Z-t hálóba kellett helyezni, 9-én pedig egy új lónál, Ke-nél jelentek meg a tünetek – ezt másnap kezelésre szállították el, de két nappal később elaltatásra került. Február 15-én F, a januárban kórházba került ló visszaérkezett az istállóba. Február 20-án T, ami januárban inkontinencia és hátsó testfél gyengeség tüneteit mutatta, már önállóan képes volt felállni, de még mindig vizeletcsepegés volt észlelhető. Február 22-én egy másik lovat, P-t is kórházba szállítottak, ami 3 nappal később visszaérkezett a telepre. Március 3-án, egy hónappal később, Z, amit korábban hálóba helyeztek, még mindig csak annak segítségével volt képes álló helyzetben maradni.

A március 25-ét megelőző napokban egy, a mohácsi istálló ellátó állatorvosa által látogatott kölkedi istállóban 4 lónál tapasztaltak tüneteket: E-nél láz, gyengeség, K-nál étvágytalanság, levertség, H-nak beszűrődött a lába, G pedig tompa volt, bizonytalanul járt, de volt étvágya és 3 nap múlva már nem mutatott tüneteket. Március 26-án orrtampon és vérmintát vettek E-ből, ami PCR vizsgálattal EHV-1 vírusra enyhén pozitív lett, azonban a bakteriológiai vizsgálat *Streptococcus equi ssp. equi* fertőzöttséget állapított meg. Április 4-én 8 lóból (I, K, M, Ga, A, P, E, G) vettek mintát (orrtampon, EDTA- illetve natív vérmintát), amiből kettőt (M, A) PCR-rel, hármat (P, E, G) vírusneutralizációval, hármat (I, K, Ga) pedig mindkét módszerrel vizsgáltak. A PCR tesztek negatívak lettek, azonban a vírusneutralizáció 5 esetben magas titer emelkedést mutatott, ami akut fertőzésre utalt. Ezen lovak egy része (K, P, E, G) február-márciusban mutatott tüneteket, a herpeszvírusok esetében szokatlanul magas ellenanyag-titer igazolta az EHV-1 fertőzést, valamint arra is utal, hogy ezek a lovak valószínűleg életükben először fertőződtek meg a vírussal, vakcinás védettségük pedig a fertőződés idején nem volt.

Az ezekből az esetekből (4. táblázat: 10/2022, 28/2022 és 61/2022 iktatási számok) érkezett mintákat szekvenálásra küldtük az Irish Equine Centre-rel való együttműködésben (5. táblázat), azonban közülük csak a 10/2022 minták (1T, 2T, 4T eredeti tamponminták, valamint a 3T mintából RK sejtvonalon izolált vírus) esetében volt sikeres a szekvencia-meghatározás. Mind a 4 mintából kimutatott vírus genomja tartalmazta a neurológiai markert (D752), és ez korrelál azzal, hogy ezeknek a lovaknak súlyos idegrendszeri tünetei voltak. A

mohácsi-kölkedi járványkitörésből kimutatott vírusok az EHV-1 13-as genetikai kládjába tartoznak (2. ábra), szemben 2021-es kitörésből kimutatott vírussal, ami a 7-esbe, ezzel azt igazoltuk, hogy a két járványkitörés között nincs járványtani összefüggés, hiszen két teljesen eltérő vírus okozta a fertőzést.

Ezen túlmenően a genomszekvenálással azt is bizonyítottuk, hogy sem a 2021-es, sem a 2022-es magyarországi járványkitörések nincsnek összefüggésben a 2021. tavaszi valenciai járványkitöréssel. A valenciai versenyen, attól függetlenül, hogy főleg idegrendszeri tünetek jelentkeztek a lovaknál, nem a neurológiai genotípus (D752), hanem az abortogén (N752) volt jelen. Korábban úgy gondolták, hogy a vírus EHM-et okozó képessége specifikus EHV-1 törzsekhez, az úgynevezett neuropatogén törzsekhez kapcsolódik, amelyek egy specifikus DNS-polimeráz génmutációt mutattak (ORF30: D752). [22, 23] Azonban újabb tanulmányok azt mutatják, hogy ez az összefüggés nem kizárólagos [22], ahogy láthatjuk ebben az esetben is.

Az EHV-1-et filogenetikai csoportokba, kládokba osztják, amiből az EHV-1 esetében 13 darab van. Az abortogén izolátumok kilenc, a neurológiai izolátumok pedig a 13 kládból öt csoportba sorolhatók. [22] A valenciai vírus a 10-es kládba tartozik [6, 20], ami további bizonyíték arra, hogy a 2021-es pilisjászfalui, valamint 2022-es mohácsi-kölkedi esetek nincsenek összefüggésben a 2021 tavaszi valenciai járványkitöréssel.

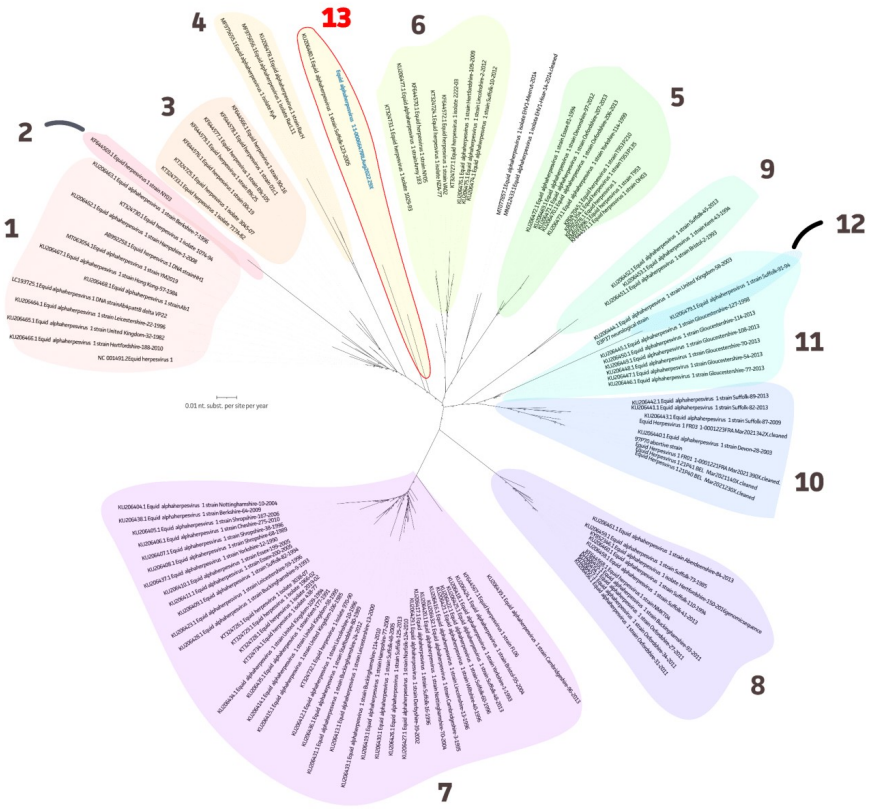

Figure 1. Phylogenetic analysis of the EHV-1 genome. *The legend shows the genetic distance as the number of nucleotide substitutions per site. The strain of this analysis is indicated in blue.*

1. ábra Az Irish Equine Centre által teljes genomszekvenáláson átesett 10/2022 RK azonosítójú minta filogenetikai analízise. Ezen jól látszik, hogy a minta a 13-as kládba tartozik.

A valenciai járványkitörésben szerepet játszó vírustörzs legközelebbi genetikai rokonságban a Suffolk/123/2005 víruzstörzshöz áll. Ezt egy cob típusú ló vetélt magzatából, annak tüdejéből, májából, tímuszából és lépéből izolálták 2005-ben. [24] Habár ez is egy alapvetően vetélést okozó törzs, a versenyen mégis idegrendszeri tüneteket okozott.

A vizsgált időszakban egy harmadik járványkitörést is diagnosztizáltunk a laboratóriumban. Ebben az esetben egy ráckevei istállóban tartott ló bizonyult pozitívnak, a kezelő állatorvos elmondása szerint hátsó testfél gyengeség volt a klinikai tünet, mely miatt a ló nem volt képes fedezésre. A lóból vett mintában kimutatott vírus szekvenálását megkíséreltük, azonban az alacsony vírustiter miatt ez nem volt sikeres, így a fertőzést okozó törzsről semmilyen információ nem áll rendelkezésre, ami alapján járványtani összefüggést kereshetnénk akár a korábbi magyarországi, akár a 2021-es valenciai járványkitöréssel.

A VN vizsgálatok eredményei szerint a 14 ló közül egynél negatív eredményű lett a teszt. Szintén egy ló esetében végeztünk savópár-vizsgálatot (197/2021 és 210/2021-es iktatási számú minták), melyek a 2021 júliusban Pilisjászfalun történt járványkitörésben érintett lóból érkeztek a laboratóriumba. Ebben az esetben a savópár-vizsgálat első mintájában 1:11, míg a 14 nappal később vett vérmintában 1:23 ellenanyag-titert mértünk. Mivel a herpeszvírusok általánosságban gyenge antigének, azaz immunizálást vagy fertőzést követően is rendszerint alacsony ellenanyag-titer detektálható, a vizsgálatban kapott ellenanyag-titerek - elsősorban a titeremelkedés - vírusaktivitásra, azonban a nem kiugróan magas titer inkább a látens fertőzés reaktivációjára utal, összhangban az enyhe klinikai tünetekkel.

A 170/2021 minta esetében sem a klinikai tünetekről, sem a vakcinázottsági állapotról nincs információnk, ezért az 1:5,7 ellenanyag-titer magyarázata nem lehetséges. A 171/2021 minta esetében súlyos idegrendszeri tünetek jelentek meg az állaton másik karámba való áthelyezését követően, amit a tulajdonos elmondása szerint az ló „nagyon stresszesen reagált le". Ez a ló 6 hónapon belül nem volt EHV-1 ellen vakcinázva, ezért az 1:16 ellenanyag titer a negatív PCR eredmény mellett is vírusaktivitásra utal. A vérmintát 3 nappal az első klinikai tünetek megjelenésekor vették, savópár-vizsgálatra második vérminta nem érkezett, így ezt az ellenanyag-titert a súlyos tünetekkel összhangban akár friss fertőzésre, vagy egy ezt az esetet megelőző friss fertőzést követő látencia utáni első reaktivációval tudnánk magyarázni, ez azonban a savópár hiányában csupán feltételezés. Nyugat-nílusi láz vírusa elleni ellenanyagok vizsgálata nem történt, így a differenciál-diagnózisban ezt a betegséget egyértelműen nem tudjuk kizárni.

A 214/2021 minta esetében a ló súlyos idegrendszeri és kólikás tünetek között a tünetek megjelenése utáni napon elpusztult, a vérminta vétele ekkor történt az állatból. Az állományban 1 éven belül EHV-1 elleni vakcinézés nem történt, a beteg kanca biztosan nem kapott védőoltást 6 hónapon belül. Ennek megfelelően az 1:45 titer a klinikai tünetek megjelenésének másnapján magasnak számít, így feltételezhető, hogy a betegség és a ló elpusztulása EHV-1 fertőzés következtében történt. A szóba jöhető egyéb idegrendszeri tüneteket okozó nyugat-nílusi láz a szintén elvégzett WNV IgG-ELISA pozitív eredménye alapján kizárható.

A 234/2021 minta szintén egy elpusztult lóból érkezett, mely hátsó-testfél gyengeséget és obstipációt mutatott, az exitus kólikás tünetek mellett másnapra következett be. EHV-1 elleni vakcinázás itt sem történt 1 éven belül. Az ebben az esetben negatív EHV-1 PCR eredmény

mellett mért 1:4 ellenanyag-titer alacsonynak mondható, ugyanakkor, mivel a tünetek másnapján történt a mintavétel, egyértelműen nem zárja ki a látens fertőzés reaktivációját. Nyugat-nílusi láz az IgG ELISA pozitivitás alapján kizárható.

A 235/2021 minta egy, az előző lóval megegyező tüneteket mutatott, másik állattartó telepen tartott, szintén egy éven belül nem vakcinázott lóból érkezett. A vérmintát a tünetek megjelenése utáni napon vették, így az 1:5,7 ellenanyag-titer felveti a látens fertőzés reaktivációjának gyanúját, azonban ezt a feltételezést csak akkor lehetne bizonyítani, ha savópár-vizsgálat is történt volna. A ló vérsavója nyugat-nílusi láz vírusa ellen termelt IgG ellenanyagokat nem tartalmazott, IgM ellenanyagok kimutatásáról nincs információnk, ezért a nyugat-nílusi láz fertőzés sem zárható ki egyértelműen – különösen az augusztusi megbetegedést is figyelembe véve – a kórokok közül.

A 13/2022 mintát vetélést követően vették egy kancából. A ló a február eleji vetélést megelőző decemberben EHV-1 ellen vakcinázva lett, így az 1:45 ellenanyag-titer értékelése nehéz. Mivel a herpeszvírus-indukálta vetélés hetekkel, akár hónapokkal a fertőzés vagy a vírus reaktivációja után következik be, [12, 14] valamint a vakcinázás rendszerint alacsony ellenanyagszint-emelkedést indukál az ellenanyag-titer a klinikai tünetekkel összefüggésben vírusaktivitásra is utalhat. [13] Ezt a feltételezést savópár-vizsgálattal nem tudnánk igazolni, ugyanis mire a vetélés megtörténik, addigra az immunrendszer már reagált, így további titeremelkedést már nem várhatunk, hiába is vennénk további vérmintákat a vetélést követően. A vetélt magzatból nem érkezett minta a laboratóriumba, így az EHV-1 fertőzés direkt víruskimutatással sem volt bizonyítható.

A 38/2022 minták a kölkedi istállóból érkeztek, ahol a mohácsi járványkitörést követően több ló is súlyos idegrendszeri tüneteket mutatott. A 38/2022/E minta egy olyan lóból érkezett, ami 11 nappal korábban tüneteket mutatott és orrtampon-mintája real-time PCR-rel EHV-1 pozitívnak bizonyult. Ebben az állatban 1:91 ellenanyag-titert mértünk, ami herpeszvírusok esetében magasnak számít, ezért a klinikai tünetekkel összevetésben feltételezésünk szerint friss fertőzés eredménye. További két ló (38/2022/K és 38/2022 G) tudjuk, hogy idegrendszeri tüneteket mutattak, ugyanakkor orrtampon minta belőlük korábban nem, a vizsgált natív vérmintával egyidőben is csak K jelű lóból érkezett, és ez negatív eredményű lett. Mindkét ló esetében extrém magas ellenanyag-szintet mértünk (K – 1:362, G- 1:512), amit csak azzal tudunk magyarázni, hogy ezek a lovak életükben először fertőződtek EHV-1-gyel. A 38/2022/P lóról tudjuk, hogy egy másik, fertőzött lóval érintkezhetett, és

feltételezések szerint ez a ló hurcolta be az istállóba a fertőzést. Klinikai tüneteket nem mutatott, azonban az 1:128 EHV-1 elleni ellenanyag-titer erős vírusaktivitásra, akár friss fertőzésre is utalhat. A 38/2022/Ga és 38/2022/I lovak esetében nem tudunk klinikai tünetekről. A vérmintákban mért 1:23 és 1:32 ellenanyag-titer vírusaktivitás (kezdetének?) gyanúját veti fel, azonban klinikai információk nélkül ezen eredmények értékelése csak feltételezéseken alapulhat.

A vakcinázás tekintetében azt tudjuk, hogy a rendszeresen vakcinázott ló pozitívnak bizonyult (idegrendszeri tünetek nélkül), míg más lovak, amiket ráadásul ugyanabban az istállóban tartottak, negatívak lettek, de más esetben pedig a nem vakcinázott, pozitív lovak súlyos idegrendszeri tüneteket mutattak. Amelyik ló esetében rendelkezésünkre áll a kórelőzmény neurológiai tünetekről, azok közül egyik állat sem volt oltva 6 hónapon belül, ameddig pedig az immunitás tart. [13] Ez összefügg a korábban tárgyaltakkal, miszerint nincs megfelelő magyarázat arra, hogy egyes lovak miért mutatják az EHV-1 különböző klinikai tüneteit járványkitörés során, [9] illetve, hogy a vakcinázás nem véd 100%-ban a fertőzéstől. [9, 10, 12, 18]

Habár az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virológia laboratóriumába nem jutott el olyan minta, aminek a genomszekvenálás alapján köze lenne a valenciai EHV-1 járványkitöréshez, ez nem zárja ki a valenciai kitörést okozó vírustörzs jelenlétét Magyarországon. A TDK munkám alapján problémának tartom, hogy míg az EHV-1 és EHV-4 fertőzés OIE listás betegség, az állatbetegségek bejelentésének rendjéről szóló 113/2008. (VIII. 30.) FVM rendelet szerint Magyarországon ezek nem tartoznak bejelentési kötelezettség alá, ezért a fertőzés gyanúja esetén nem minden esetben történik laboratóriumi vizsgálat és járványügyi nyomozás. Még bizonyított EHV-1 kitörés esetén sem rendelnek el forgalmi korlátozást, ami pedig kiemelten fontos lenne. Ezen túlmenően, mivel a rendelet nem írja elő, hogy a betegség gyanúja esetén csak meghatározott (akkreditált) laboratóriumok vizsgálhatnák a mintákat, az akár a valenciai, akár a dolgozatomban ismertetett, akár a tudomásunkra nem jutott járványkitörésekkel összefüggésbe hozható minták más laboratóriumokban is vizsgálatra kerülhettek és kerülhetnek a jövőben is, így a járványügyi helyzetről átfogó képet mutató adatok nem állnak (központosítottan) rendelkezésre. Tehát, amíg a szabályozás szigorításra nem kerül, és amíg a lótulajdonosok, állatorvosok, nem vizsgáltatnak, illetve vizsgálnak ki minden gyanús esetet (például egy-egy elszórtan jelentkező vetélést, enyhébb idegrendszeri tünetet), valamint a vizsgálatok eredményeinek központosított összegyűjtése nem valósul meg, addig nem fogunk többet tudni az EHV-1

fertőzöttség valós magyarországi helyzetéről és arról, hogy pontosan milyen törzsek vannak jelen idehaza.

Vakcinázás tekintetében úgy gondolom, hogy érdemes figyelembe venni a FEI ajánlását, és egyedi döntés alapján mérlegelni, hogy szükséges-e oltani, vagy sem. Mindenképpen tájékoztatni kell a lótulajdonosokat arról, hogy a vakcinázás nem egyedi, hanem inkább állományszintű védelmet nyújt, így inkább az egész istálló, és nem egy-egy egyed oltása lehet a célravezető. Valamint érdemes figyelemmel kísérni az aktuális vakcinafejlesztést, hiszen jelenleg is dolgoznak azon, hogy még hatékonyabb oltóanyagokat állítsanak elő, ami minden bizonnyal nagyban segíteni fogja a herpeszvírusok elleni védekezést a jövőben.

Mindent egybevetve, szükségesnek tartom az EHV-1 járványhelyzet további vizsgálatát és ezzel párhuzamosan a bővebb ismeretterjesztést a lótartók és a kezelő állatorvosok körében a herpeszvírusok okozta fertőzésekről és az ellenük történő vakcinázásról.

6. Összefoglalás

A ló herpeszvírus-1 (EHV-1) az *Alphaherpesvirinae* alcsaládba, azon belül pedig a *Varicellovirus* genusba tartozik. Napjainkban is jelentős gazdasági károkkal járó, légzőszervi tüneteket, a vemhesség végén vetélést és felnőtt lovakban idegrendszeri tüneteket (myeloencephalopathia) okozó fertőző betegség. Légúti váladékkal hatékonyan terjed, az állatokban hosszú időn keresztül képes lappangani, mely tulajdonsága hozzájárul ahhoz, hogy számos járvány kitöréséért volt felelős az évek során. Ezek közül az egyik legsúlyosabb a 2021 január-februárban, Spanyolországban megrendezett CES Valencia Spring Tour díjugrató versenyhez kötődő járványkitörés, melynek következtében az aktuális versenyszezonban fokozott figyelem irányult a lovak fertőzöttségére, illetve attól való mentességére.

Az EHV-1 fertőzés OIE listás, de Magyarországon nem bejelentési kötelezettség alá tartozó betegség, a valenciai járványkitörés után azonban a versenyeket megelőző, vírusürítésre irányuló szűrésre, valamint a fertőzés gyanúját felvető tüneteket mutató lovak laboratóriumi diagnosztikai vizsgálatára fokozottabb érdeklődést tapasztaltunk mind a tulajdonosok, mind a kezelő állatorvosok részéről. Dolgozatomban az Állatorvostudományi Egyetem Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék Virológia laboratóriumába érkezett minták vizsgálatának eredményeit, valamint a pozitív esetek elemzését foglalom össze.

A laboratóriumba a vizsgálati időszakban (2021 februártól 2022 júliusig) 460 minta érkezett, ezek közül 445 minta vizsgálata a vírus jelenlétére, míg 15 minta vizsgálata a fertőzés igazolására szolgáló ellenanyag-kimutatásra irányult. A direkt víruskimutatást real-time polimeráz láncreakcióval végeztük, a beérkezett minták közül 7 bizonyult pozitívnak, és egy kétesnek. A pozitív mintákat az Irish Equine Centre munkatársaival együttműködésben részletes genetikai analízisnek vetettük alá, melynek eredménye szerint egyik fertőzés sem kapcsolódik a valenciai járványkitöréshez, azonban a kimutatott vírusok genetikai mintázata a klinikai tünetekkel korrelál. Az indirekt víruskimutatásra küldött minták egy részében a friss fertőzésre utaló magas ellenanyagszintet mértünk, míg más minták eredményei korábbi fertőzésre vagy a látens fertőzés reaktiválódására utalnak.

A vizsgálataim eredményei alapján a hazai EHV-1 járványhelyzet teljes feltérképezését, valamint a lótartók és lovakat kezelő állatorvosok körében a herpeszvírusok okozta fertőzésekkel kapcsolatos ismeretterjesztést tartom szükségesnek.

7. Summary

Equine herpesvirus-1 (EHV-1) belongs to the subfamily Alphaherpesvirinae, and within that, to the genus Varicellovirus. It is an infectious disease that still causes significant economic damage, respiratory disease, abortion at the end of pregnancy, and neurological symptoms (myeloencephalopathy) in adult horses. It is efficiently transmitted by respiratory secretions and can persist in animals for long periods, a characteristic that has contributed to the outbreaks of several epidemics over the years. One of the most serious of these is the outbreak linked to the CES Valencia Spring Tour in Spain in January-February 2021, which has led to increased attention being paid to the infection and immunity of horses during the current competition season.

Although EHV-1 infection is an OIE-listed disease, it is not notifiable in Hungary, but after the outbreak in Valencia, there has been increased interest from both owners and practising veterinarians in the pre-competition screening for the virus and laboratory diagnostic testing of horses with symptoms of suspected infection. In my thesis, I summarise the results of the testing of samples received at the Virology Laboratory of the Department of Microbiology and Infectious Diseases of the University of Veterinary Medicine Budapest, as well as the detailed virological and epidemiological analysis of positive cases.

The laboratory received 460 samples during the study period (February 2021 to July 2022), of which 445 samples were tested for the presence of the virus, and 15 samples were tested for the detection of antibodies to confirm infection. Direct virus detection was performed by real-time polymerase chain reaction, 7 of the received samples were positive, and one was dubious. The positive samples were subjected to a detailed genetic analysis in collaboration with the Irish Equine Centre, which showed that none of the infections was linked to the Valencia outbreak but that the genetic pattern of the detected viruses correlated with clinical signs. In some of the samples sent for indirect virus detection, high antibody levels were measured, indicating recent infection, while other samples' results suggest previous infection or reactivation of latent infection.

Based on the results of my study, I consider it necessary to map the EHV-1 epidemic situation in Hungary and raise awareness of herpesvirus infections among horse owners and veterinarians as well.

8. Irodalomjegyzék

1. Erdélyi, Magdolna (2007) A lovakról általában. In: Lovak - amit a lovakról tudni érdemes, Pannon-Literatúra Kft., Kisújszállás, pp 8-23

2. Timoney PJ (2014) Infectious Diseases and International Movement of Horses. Equine Infectious Diseases. Elsevier, 544-551.e1 https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-0891-8.00063-4

3. Rodriguez M, Hooghuis H, Castaño Ma (1992) African horse sickness in Spain. Veterinary Microbiology 33:129–142. https://doi.org/10.1016/0378-1135(92)90041-Q

4. Mertens PPC (1999) Orbiviruses and Coltiviruses (*Reoviridae*): General Features, In: Granoff A, Webster RG (eds), Encyclopedia of Virology (Second Edition). Elsevier, USA, pp 1043-1061, https://doi.org/10.1006/rwvi.1999.0195

5. In Brief : Spain Still On for Equestrian Events (1989) In: Los Angeles Times https://www.latimes.com/archives/la-xpm-1989-01-16-sp-555-story.html Accessed 16 September 2022

6. Sutton G, Normand C, Carnet F, Couroucé A, Garvey M, Castagnet S, Fortier CI, Hue ES, Marcillaud-Pitel C, Legrand L, Paillot R, Pitel P-H, Cullinane A, Pronost S (2021) Equine Herpesvirus 1 Variant and New Marker for Epidemiologic Surveillance, Europe, 2021. Emerg Infect Dis 27:2738–2739. https://doi.org/10.3201/eid2710.210704

7. Mettenleiter TC, Ehlers B, Müller T, Yoon K, Teifke JP (2019) Herpesviruses. In: Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Stevenson GW, Zhang J (eds) Diseases of Swine, 1st ed. Wiley, 548–575 https://doi.org/10.1002/9781119350927.ch35

8. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV): https://ictv.global/taxonomy/ Accessed 14 September 2022

9. Wilson WD (1997) Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. The Veterinary clinics of North America, Equine practice 13:53–72. https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30255-9

10. Reed SM, Toribio RE (2004) Equine herpesvirus 1 and 4. Veterinary Clinics of North America - Equine Practice 20:631–642 https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.09.001

11. Elton D, Bryant N (2018) Chapter 3.5.9. Equine rhinopneumonitis (infection with equid herpesvirus-1 and -4) In: World Organisation for Animal Health https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.06.09_EQUINE_RHINO.pdf Accessed 13 October 2022

12. Pusterla N, Hussey GS (2014) Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy. Veterinary Clinics of North America, Equine Practice 30:489–506 https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.08.006

13. Kydd JH, Townsend HGG, Hannant D (2006) The equine immune response to equine herpesvirus-1: The virus and its vaccines. Veterinary Immunology and Immunopathology 111:15–30. https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.01.005

14. van Maanen C (2002) Equine herpesvirus 1 and 4 infections: An update. Veterinary Quarterly, 24:57-78 https://doi.org/10.1080/01652176.2002.9695126

15. Hussey SB, Clark R, Lunn KF, Breathnach C, Soboll G, Whalley JM, Lunn DP (2006) Detection and quantification of equine herpesvirus-1 viremia and nasal shedding by real-time polymerase chain reaction. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 18:335-342 https://doi.org/10.1177/104063870601800403

16. Patel JR, Heldens J (2005) Equine herpesviruses 1 (EHV-1) and 4 (EHV-4) – epidemiology, disease and immunoprophylaxis: A brief review. The Veterinary Journal 170:14–23 https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.04.018

17. Lunn DP, Davis-Poynter N, Flaminio MJBF, Horohov DW, Osterrieder K, Pusterla N, Townsend HGG (2009) Equine Herpesvirus-1 Consensus Statement. Journal of Veterinary Internal Medicine 23:450–461. https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0304.x

18. EHV-1 Report, Part 3. In: FEI https://inside.fei.org/fei/your-role/veterinarians/biosecurity-movements/biosecurity/ehv-1/report Accessed 12 October 2022

19. Magyar Dorottya (2021) A 2021-es EHV járványkitörés krónikája napról napra. https://riderline.hu/magazin/2021/a-2021-es-ehv-jarvanykitores-kronikaja-naprol-napra Accessed 07 October 2022

20. Vereecke N, Carnet F, Pronost S, Vanschandevijl K, Theuns S, Nauwynck H (2021) Genome Sequences of Equine Herpesvirus 1 Strains from a European Outbreak of Neurological Disorders Linked to a Horse Gathering in Valencia, Spain, in 2021. Microbiology Resource Announcements 10(20) https://doi.org/10.1128/mra.00333-21

21. EHV-1 Report, Part 2, Annex 1, 2, 3, 6. In: FEI https://inside.fei.org/fei/your-role/veterinarians/biosecurity-movements/biosecurity/ehv-1/report Accessed 07 October 2022

22. Garvey M, Lyons R, Hector R, Walsh C, Arkins S, Cullinane A (2019) Molecular Characterisation of Equine Herpesvirus 1 Isolates from Cases of Abortion, Respiratory and Neurological Disease in Ireland between 1990 and 2017. Pathogens 8:7. https://doi.org/10.3390/pathogens8010007

23. Carvelli A, Nielsen SS, Paillot R, Broglia A, Kohnle L (2022) Clinical impact, diagnosis and control of Equine Herpesvirus-1 infection in Europe. EFSA Journal 20:. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7230

24. Bryant NA, Wilkie GS, Russell CA, Compston L, Grafham D, Clissold L, McLay K, Medcalf L, Newton R, Davison AJ, Elton DM (2018) Genetic diversity of equine herpesvirus 1 isolated from neurological, abortigenic and respiratory disease outbreaks. Transbound Emerg Dis 65:817–832. https://doi.org/10.1111/tbed.12809

25. EHV-1 Report, Part 1, Annex 6, 12. In: FEI https://inside.fei.org/fei/your-role/veterinarians/biosecurity-movements/biosecurity/ehv-1/report Accessed 07 October 2022

9. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm témavezetőimnek , Dr. Forgách Petra Évának, Dr. Korbacska-Kutasi Orsolyának, valamint Dr. Tenk Miklós Tanszékvezető Úrnak, továbbá Bakonyi Győző laborasszisztensnek, ezen kívül az Irish Equine Centre munkatársainak, akik a genomszekvenálást végezték, hogy hozzájárultak ennek a dolgozatnak az elkészüléséhez. Ezen kívül köszönöm családomnak, barátaimnak, és mindenkinek aki bármilyen formában hozzájárult a szakdolgozatomhoz.

HuVetA

ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: OZVALDI KI BERNADETT
Elérhetőség (e-mail cím): ozvaldibelli@gmail.com
A feltöltendő mű címe: ELTE-1 JÁRVÁNYHELYZET MAGYARORSZÁGON A 2021-ES VALENCIAI JÁRVÁNY KITÖRÉS TÜKRÉBEN
A mű megjelenési adatai: SZAKDOLGOZAT
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (**egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel**):

☒ engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,

☐ az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,

☐ a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,

☐ csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, **nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:**

☒ Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetÁ-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénysértő módon visszaélne.

Budapest, 2022 év ....11.....hó ...11....nap

aláírás
szerző/a szerzői jog tulajdonosa

---

*A **HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive** az Állatorvostudományi Egyetem Hutÿra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.*

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*

NYILATKOZAT

Alulírott OZVALDIK BERNADETT nyilatkozom, hogy diplomamunkám, melynek címe EKV-1 JÁRVÁNYHELYZET MAGYARORSZÁGON A 2021-ES VALENCIAI JÁRVÁNYKITÖRÉS TÜKRÉBEN tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2022 évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2022. 11. 11.

OZVALDIK BERNADETT

a hallgató neve és aláírása