

**Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**Sertés circovírusok járványtani vizsgálata**

**PhD dolgozat tézisei**

Készítette:

**Dr. Cságola Attila**

Témavezető:

**Dr. Tuboly Tamás**

**2009**

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

Témavezető:

Dr. Tuboly Tamás, egyetemi docens  
SZIE-ÁOTK Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék

Témabizottsági tagok:

Dr. Kiss István  
Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal, Debrecen  
Igazgató

Prof. Dr. Éva Nagy  
University of Guelph, Dept. of Pathology, Kanada

Az értekezés Dr. Tuboly Tamás elnökletével Budapesten 2009. február 2-án tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

Dr. Cságola Attila

## 1. Irodalmi áttekintés

A sertés circovírusoknak (porcine circovirus, PCV) jelenleg két típusa ismert: az apatogén PCV1 és a patogén PCV2, mely számos kórképpel hozható kapcsolatba, és jelentős gazdasági károkat okoz a sertésállományokban. A kórokozó mára az egész világon elterjedt. Retrospektív vizsgálatok alapján a vírus az 1970-es és 1980-as évekből származó sertés eredetű mintákból is kimutatható.

A PCV2 két genotípusban fordul elő, melyek között a legmarkánsabb különbség a genom méretében van: a hosszabb genommal rendelkező PCV2A és a rövidebb PCV2B genotípus. A járvány kezdetén a különböző kórképekből a PCV2A genotípust lehetett gyakrabban kimutatni, 2003-ra Nyugat-Európában, Ázsiában és 2005-től Észak-Amerikában azonban a PCV2B genotípus vált elterjedtebbé. Magyarországon az első PCV2-vel kapcsolatba hozott megbetegedéseket 1999-ben azonosították és 2003-ig hazánkban is a PCV2A genotípus volt a gyakoribb.

A PCV2 által okozott betegségek egyik típusát, a választott malacok circovírus okozta sorvadását (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) 1991-ben írták le először, az azóta eltelt időben a kórokozót, a PMWS mellett kisebb gyakorisággal, de más kórformákból is kimutatták. A PMWS megjelenése után a PCV2-vel összefüggést mutató betegségek száma jelentősen bővült, éppen ezért ma már általában PCV okozta betegségekről (PCV diseases, PCVD)

szokás beszélni. A PCV2-t a PMWS mellett, bizonyítottan a következő kórképekkel hozták kapcsolatba: sertések légzőszervi betegség komplexe (porcine respiratory disease complex, PRDC), sertések dermatitisz nefropátiája (porcine dermatitis nephrophathy syndrome, PDNS), magzati miokarditisz és reprodukív rendellenességek.

A PMWS észak-amerikai megjelenése után sorra bukkant fel Európa és Ázsia országaiban, de Észak-Amerikában a PMWS mellett megjelent a PRDC kórkép is, és ott az előfordulása gyakoribbá vált, mint a PMWS kórképé. Ezzel szemben Európában - így nálunk is, és tőlünk keletebbre is - a PCVD-k közül a PMWS dominál. Az Európa nyugati felén elindult PCV2 járvány folyamatosan terjedt és terjed ma is keleti irányba. Jelenleg tehát az európai járványtani kép nem egységes, a nyugati területeken a fertőzés enzociássá vált, míg keleti irányba haladva a járvány terjedése tapasztalható. A járványtani kép mellett a kórképben is vannak eltérések a nyugati és keleti helyzetet tekintve. Míg nyugaton egyre gyakrabban jelentkezik a betegség a klasszikusnak tekintett PMWS mellett, attól eltérően, PRDC formában, addig kelet felé haladva, ahol a járvány még aktívan terjed, továbbra is a PMWS forma dominál.

A kórokozó időközben átjutott a vaddisznó populációba is, ami egy esetleges jövőbeni mentesítés lehetőségeit erősen korlátozza, de ha mentesítési programok nem is indulnak el, állandó veszélyforrást fognak jelenteni azokon a területeken, ahol a járvány már lecsillapodott.

## **2. Célkitűzések**

Munkánk elsődleges célja az volt, hogy a PCV2 járványtanához szolgáltatassunk újabb adatokat. Ezt a következő feladatok elvégzése révén kívántuk elérni:

1. A hazai vaddisznó állomány PCV fertőzöttségének felmérése.
2. A hazai és a közép-kelet európai helyzet megismerése.
3. A rágcsálók esetleges PCV2 hordozó és ürítő szerepének vizsgálata.
4. Egy hatékony PCV2 vakcina előállítására alkalmas vírustörzs létrehozása és jellemzése.

## **3. Anyag és módszer**

### **3.1. A minták származása**

A vizsgálat alapjául szolgáló vaddisznó eredetű szervmintákat a Debreceni Állategészség-ügyi Intézettől és egy vadfeldolgozó üzemből (FIWI-HÜT Kft., Tata) kaptuk 2002 és 2003 között.

Az első romániai PMWS és PDNS leírásához a mintákat egy Erdély észak-nyugati részén található sertésállományból kaptuk, ahol megközelítőleg 30000 állatot tartottak.

2007 során a közép-európai térség országaiból gyűjtöttünk

szlovák, horvát, cseh, lengyel, román, valamint magyar mintákat, hogy kiderítsük, milyen PCV2 genotípusok fordulnak elő térségünkben.

Munkánk során főként vese és nyirokcsomó, ritkábban mandula, máj és lép mintákat vizsgáltunk. A mintákat -20 °C-on tároltuk a feldolgozásig.

### **3.2. DNS tisztítás**

A sertésekből és az egerekből származó mintákból a DNS-t Chelex 100<sup>®</sup> Molecular Biology Grade Resin (Bio-Rad) mikrogyantával tisztítottuk, a gyártó utasításainak megfelelő módon.

Az egerekkel végzett kísérleteink során a bélsárból és a vizeletből a vírus-nukleinsavat QIAGENE QIAamp<sup>®</sup> DNA Stool Mini kit segítségével vontuk ki, a kezelési útmutatóban foglaltak szerint.

### **3.3. DNS amplifikálás, szekvencia analízis**

A circovírus DNS-t polimeráz láncreakció (PCR) segítségével amplifikáltuk. A PCR-hez használt primereket a GenBank adatai, valamint saját, korábbi vizsgálatainkból származó adatok alapján számítógépes programok (Primer2, Scientific and Educational Software, és az Oligo6 program, Molecular Biology Insights Inc.) segítségével terveztük, illetve a nemzetközi szakirodalomban közzétett adatok alapján rendeltük meg a Csertex Kft.-től (Budapest) és a Biomi

Kft.-től (Gödöllő).

A szekvenáláshoz a PCR-t Big Dye Kit-tel (Applied Biosystems, USA) végeztük. A szekvenálási reakciók leolvasását a Genodia Molekuláris Diagnosztika Kft. (Budapest) és a Biomi Kft. (Gödöllő) végezte Big Dye kittel ABI310 automata szekvenáló készülékben. A BioEdit version 5.0.6. programot használtuk a szekvenálás eredményeinek értékelésére, valamint a teljes szekvenciák összeillesztéséhez. A MEGA version 4.0 programmal végeztük a replikációs és kapszid fehérjét kódoló DNS szekvenciák aminosav sorrendé alakítását, valamint a teljes genomok, illetve fehérje szekvenciák összehasonlítását ClustalW multiple alignment algoritmussal. A filogenetikai analízist szintén a MEGA version 4.0 programmal végeztük, a bootstrap érték 1000 volt.

### **3.4. Állatfertőzési kísérletek**

Állatkísérleteinkhez NMRI 25-29 grammos (6 hetes) nőtény fehér egereket használtunk, amelyeket a TOXI-COOP KKT-től (Budapest) vásároltunk. A kísérletek során a ROM1 vírustörzzsel (GenBank-i kódja: DQ233257) fertőztük az egereket. A hasüregbe történt oltások során  $5 \times 10^2$  TCID<sub>50</sub> mennyiségű vírussal fertőztük az egereket. Valamennyi esetben a vizsgált szervminták a következők voltak: vérsavó, csecsemőmirigy, máj, lép, vese, bélfodri nyirokcsomó, csontvelő. A vírus-nukleinsav kimutatását a mintákból PCR-rel

végeztük.

**Patogenitási vizsgálat:** 2 negatív kontroll mellett 4 egeret hasüregbe oltottunk három alkalommal, két hetes időközzel a ROM1 vírustörzsből. Az utolsó oltás után két héttel az egereket extermináltuk az állatvédelmi előírásoknak megfelelően.

**Vírusreplikáció vizsgálata:** 28 egeret oltottunk hasüregbe egy alkalommal. Ezt követően kétnaponta extermináltunk 4 egeret.

**Vírusürítési vizsgálat 1.:** 4 egeret oltottunk hasüregbe, majd az oltás után 6 nappal 4 oltatlan egeret tettünk a fertőzött egerek közé. Az oltás után 24 nappal két oltott és két oltatlan egeret, majd az oltás után 28 nappal a másik két oltatlan egeret is extermináltuk. A maradék 2 hasüregbe oltott egeret az oltás után 42 nappal extermináltuk.

**Vírusürítési vizsgálat 2.:** 3x6 egeret szájon át fertőztünk a ROM1 vírustörzsszel. Az első csoport  $8 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>, a második csoport  $6 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>, a harmadik csoport  $5 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub> mennyiségű vírust kapott. Az első csoporttól naponta gyűjtöttünk bélsár és vizelet mintát, majd a vírusürítést PCR-rel vizsgáltuk. A szájon át történt fertőzés után 12, 19 és 26 nappal 2-2 egeret extermináltunk mindhárom csoportból. Az első csoporthoz a fertőzést követően 12 nappal 6 PCV negatív egeret tettünk (kontakt egerek), majd ezeket 15 és 18 nappal később, tehát a fertőzés után 27 és 30 nappal extermináltuk.



## 4. Eredmények

### 4.1. A 2002 és 2003 közötti, magyarországi vaddisznókból származó PCV2 szekvenciák elemzése

A több mint kétezer, különböző vaddisznóból származó szervmintát a származási hely, és a begyűjtés ideje alapján csoportosítottuk. A vizsgált minták 20,5 %-ában volt jelen PCV2. A szekvencia adatok alapján a vaddisznó eredetű PCV2-t 7 csoportba soroltuk (WB-H1-7). A 7-ből 3 csoport a PCV2B genotípusba (WB-H1, WB-H5 és WB-H6), amíg 4 csoport a PCV2A genotípusba (WB-H2, WB-H3, WB-H4, WB-H7) tartozott. A PCV2 pozitív minták elterjedési aránya között területi megoszlás tekintetében nem volt különbség. A különböző csoportokba sorolt circovírus szekvenciák az ország minden részéről kimutathatók voltak és egy adott területen több genotípus is jelen volt. A teljes genomok nukleinsav sorrendjét, valamint a jósvolt replikációs fehérjék és kapszid fehérjék aminosav sorrendjét összehasonlítottuk a GenBank-ban található, a Föld különböző térségeiből származó, valamint a magyarországi házi sertésekből kimutatott kettes típusú sertés circovírusok nukleotid és származtatott aminosav szekvenciáival. Olyan PCV genomot, amely kizárólag vaddisznóra lenne jellemző, nem találtunk. A teljes genom alapján néhány vaddisznóból származó vírus szoros rokonságot

mutatott a korábban magyarországi házi sertésekből származó vírusokkal. Hasonló eredményt kaptunk, amikor e vírusok kapszid fehérjéinek aminosav sorrendjét hasonlítottuk össze. A vírus replikációért felelős fehérjéinek összehasonlító vizsgálata a teljes genomhoz és a kapszid fehérjéhez képest eltérő eredményt adott. A WB-H4 és a WB-H5 vírusok replikációs fehérjéi 100 %-ig megegyeztek egymással és a WB-H2 és WB-H7 replikációs fehérjéi is azonosak voltak. A kapszid fehérjéket tekintve 100 %-os azonosság volt megfigyelhető a WB-H3 és a WB-H4 vírusok között, valamint a WB-H1 és a WB-H6 kapszid fehérjéje is megegyeztek. A WB-H4 vírus kapszid fehérjéje a WB-H3 kapszid fehérjéjével, amíg a replikációs fehérjéje a WB-H5 vírus replikációs fehérjéjével volt azonos. Mindössze 0,4 % (3 nukleotid) különbség volt a WB-H3 és WB-H4 vírusok ORF2 szekvenciái között, amíg ezen a genom szakaszon a WB-H1 és WB-H6 vírusok 100 %-ig azonosak voltak.

#### **4.2. PCV1 szekvenciák elemzése**

A szekvencia analízis alapján PCV1 pozitív minták közül kiválasztottunk egyet, és meghatároztuk a teljes genom szekvenciáját (WB-H8). A WB-H8 teljes nukleotid szekvenciáját összehasonlítottuk a GenBank-ban a tanulmány megírásakor fellelhető valamennyi PCV1 szekvenciával. A WB-H8 1759 bázis hosszúságú, hasonlóan az ismert PCV1-ekhez. A vaddisznóból kimutatott PCV1 szekvencia nem

mutatott nagyobb eltérést a PK-15 sejtvonalat permanensen fertőző PCV1 törzsekben leírtaktól, mint amekkora különbség az eddig ismert PCV1 törzsek között kimutatható volt.

### **4.3. A romániai PCV2 kimutatása**

A romániai sertéstelepen 2002 májusában észleltek először sertés circovírusra utaló klinikai tüneteket. Meghatároztuk egy PMWS és egy PDNS tüneteit mutató sertésből származó mintákban talált PCV2-k teljes szekvenciáját, és megállapítottuk, hogy azok genetikailag 100 %-ig azonosak voltak. A vírus PCV2B genotípusba tartozott (GenBank-i kódja: DQ233257). A romániai PCV2 teljes genomot összehasonlítottuk az előzőekben vizsgált PCV2 teljes szekvenciákkal. A romániai vírus nagyfokú azonosságot mutatott magyar, osztrák, francia házisertésekből, valamint magyar vaddisznókból származó szekvenciákkal.

### **4.4. A közép-kelet európai régióban, 2006-2007-ben jelen lévő PCV2 szekvenciák összehasonlítása a GenBank-ban közzétett szekvenciákkal**

Megvizsgáltuk, hogy 2007-ben milyen PCV2 szekvenciák voltak jelen a közép-kelet európai régióban. Magyarországról, Szlovákiából, Csehországból, Romániából, Horvátországból és Lengyelországból

származó teljes PCV2 szekvenciákat határoztunk meg és hasonlítottunk össze a GenBank-ban 2007. december 31-ig közzétett valamennyi PCV2 teljes és ORF2 szekvenciákkal. Az összesen 37 minta vizsgálata során 34-ből a PCV2B genotípusú szekvencia volt kimutatható, és mindössze 2 magyar és 1 horvát szekvencia tartozott a hosszabb, PCV2A genotípusba. A teljes genom alapján a PCV2A genotípust 5 (A/1, A/2, A/3, A/4, A/5), a PCV2B genotípust 7 (B/1, B/2, B/3, B/4, B/5, B/6, B/7) csoportba soroltuk. Az általunk vizsgált 411 teljes genom közül 293 szekvencia tartozott a PCV2B genotípusba, azon belül is 149 szekvencia került a B/1 csoportba, köztük 30 közép-kelet európai régióból származó izolátum. Szintén ide tartozott két vaddisznóból és egy házisertésből, 2003-ban izolált szekvencia is. A PCV2A genotípusba tartozó szekvenciák közül az egyik horvát szekvencia egy PCV2B genotípusba tartozó 2007-es kínai, valamint egy PCV2A genotípusba tartozó szintén 2007-es kínai szekvenciához hasonlított, de ezek nem voltak egyik csoportba sem besorolhatók.

Az ORF2 aminosav sorrendje alapján készített törzsfán a PCV2A genotípusba tartozó szekvenciák a teljes genomhoz hasonlóan csoportosultak, míg a PCV2B genotípusba tartozó szekvenciák a teljes genomhoz képest keveredtek.

## 4.5. Egér fertőzési kísérletek eredményei

Az egerekkel végzett kísérleteink során a ROM1 vírustörzssel fertőztük az állatokat. A fertőzést követően, és utána a kísérlet végéig minden egér klinikailag tünetmentes maradt, és kórbonctani elváltozás sem volt megfigyelhető.

**Patogenitási vizsgálat:** A harmadik oltás után 14 nappal exterminált egerek csevsemőmirigyéből, csontvelőjéből, lépéből, veséjéből és májából egyaránt sikerült vírus-DNS-t kimutatni.

**Vírusreplikáció vizsgálata:** A fertőzést követő második nap kimutatható volt a vírus-DNS az egerekből, de a negyedik napon már egyetlen szervből sem lehetett kimutatni. A hatodik naptól ismét ki lehetett mutatni a vírus-nukleinsavat egy-egy szervből, de a vizsgált szervek többsége a 12-dik naptól vált PCR-rel pozitívvá.

**Vírusürítési vizsgálat 1.:** A hasüregbe fertőzött egerekből, valamint az általunk nem fertőzött egerek közül kettőből sikerült a ROM1 vírustörzset kimutatni PCR-rel. Az oltás után 42 nappal még ki lehetett mutatni a vírust.

**Vírusürítési vizsgálat 2:** Az általunk szájon át fertőzött 18 egér közül 11-ből, valamint az általunk nem fertőzött 6 egér közül 5-ből sikerült a ROM1 vírustörzset kimutatni PCR-rel. A bélsárból a 14-dik napon, a vizeletből a 22-dik napon sikerült csak 1-1 alkalommal kimutatni a vírust.

Egerekkel végzett kísérleteink során egyetlen egérből sem sikerült

sértés circovírussal reagáló ellenanyagot kimutatnunk az általunk használt indirekt immunfluoreszcenciás módszerrel.

## **5. Megbeszélés**

### **5.1. A 2002 és 2003 közötti, magyarországi vaddisznókból származó PCV szekvenciák elemzése**

Az első PMWS tünetei között megbetegedett sertéseket Magyarországon először 1999-ben diagnosztizálták. Kezdetben a betegség előfordulása sporadikus volt, de a PCV2 néhány hónap leforgása alatt gyakorlatilag az összes magyarországi nagyüzemi sertésállományban megjelent. Annak ellenére, hogy a vírus világszerte széles körben elterjedt, kevés adat áll rendelkezésre a PCV2 előfordulásáról a vadon élő állatokban, és ezek is elsősorban szerológiai adatok. Munkánk során felmérést készítettünk 2002-2003-ban, a magyarországi vaddisznó állomány PCV fertőzöttségéről. Az ország különböző részeiről gyűjtött mintákat származási hely szerint csoportosítottunk. A minták 20,5 %-ából volt kimutatható PCV2, és a két genotípus közel azonos arányban volt jelen. Vaddisznóra jellemző szekvenciát nem találtunk. A szekvencia analízis alapján felmerült a két genotípus közötti rekombináció lehetősége, amit később többen igazoltak.

Megállapítottuk, hogy a vaddisznókban a PCV2 mellett az

apatogén PCV1 változat is előfordul és a világon elsőként határoztunk meg vaddisznóból származó teljes PCV1 genomszekvenciát. Ezt megelőzően PCV1-et kizárólag PK-15 sejtvonalból, valamint vakcinából és a szövettényésztéshez használt tripszin készítményekből mutattak ki. A vaddisznóból kimutatott PCV1 szekvencia nem mutatott nagyobb eltérést a PK-15 sejtvonalat permanensen fertőző PCV1 törzsekben leírtaktól, mint amekkora különbség az eddig ismert PCV1 törzsek között kimutatható volt.

## **5.2. A romániai PCV2 kimutatása**

Részt vettünk az első romániai PCV2 által okozott kórképek leírásában, ahol az első PMWS eseteket 2002 májusában, az első PDNS tüneteit mutató sertéseket pedig két évvel később észlelték. A kórbonctani és kórszövettani elváltozások megegyeztek a szakirodalomban közzétett adatokkal. Meghatároztuk egy PMWS és egy PDNS tüneteit mutató sertésekből származó PCV2 teljes nukleotid szekvenciáját, és megállapítottuk, hogy a két kórképből származó genom azonos.

### **5.3. A közép-kelet európai régióban jelen lévő PCV2 szekvenciák összehasonlítása a GenBank-ban közzétett szekvenciákkal**

A közép-kelet európai régióban zajló PCV2 járvány molekuláris hátterének tisztázása érdekében vizsgáltuk, hogy milyen PCV2 szekvenciák fordulnak elő ebben a térségben. Magyarországról, Lengyelországból, Szlovákiából, Csehországból, Horvátországból és Romániából származó teljes PCV2 szekvenciákat határoztunk meg és hasonlítottunk össze a GenBank-ban 2007. december 31-ig közzétett szekvenciákkal. A legrégebbi közép-kelet európai letölthető genomok 2003-ból, Ausztriából és Magyarországról származtak, és a szekvenciák között a PCV2A genotípus dominált. Megállapítottuk, hogy a Nyugat-Európában végbement változáshoz hasonlóan, a közép-kelet európai régióban is a PCV2B genotípus vált uralkodóvá, de míg Nyugat-Európában már 2003-ban a PCV2B genotípus volt elterjedtebb, addig térségünkben ez csak 2007-re vált meghatározóvá. A vizsgálatok során megállapítottuk, hogy azokon a területeken, ahol a fertőzöttség még ma is terjedőben van, ott a PCV2 genomok nukleinsav szekvenciájában jelentősebb eltérések vannak, mint az endémiás vidékeken. Ugyanez a tendencia mutatkozik világszerte, a rövidebb genotípus gyorsabban terjed az eredeti PCV2A típusnál és egy genetikailag egységes járványtani kép van kialakulóban.



#### **5.4. Egerek fertőzése PCV2-vel**

A PCV2 járványtanának és a védekezésnek is meghatározó eleme annak a megismerése, hogy a vírus sertésen kívül képes-e más fajban fennmaradni, szaporodni és ürülve, sertéseket fertőzni. Jelenlegi ismereteink rendkívül korlátozottak ezen a területen. A lehetséges vírushordozó fajok közül egereket vizsgáltunk és megállapítottuk, hogy az egerek fertőzhetők PCV2-vel, a vírus képes szaporodni egérben, de betegsége utaló klinikai tüneteket és kórbonctani elváltozásokat nem találtunk. A vírusürítési vizsgálatokkal egyértelművé vált, hogy az egerek ürítik a vírust, és társaikat képesek megfertőzni. Az egerekkel végzett kísérleteink alapján feltételezhetjük, hogy ezek a rágcsálók fontos szerepet játszanak a PCV2 fenntartásában és terjesztésében.

## 6. Új tudományos eredmények

Felmértük a vaddisznó állományok PCV2 fertőzöttségét és megállapítottuk, hogy a vadállományban ugyanazok a vírusok vannak jelen, mint a házisertésekben, és a házisertésekben bekövetkezett jelentős járványtani változások a vaddisznó állományban is végbementek.

Vizsgálataink alapján elsőként jeleztük a rekombináció szerepét a PCV2 evolúciójában, amit azóta többen megerősítettek Észak-Amerikában és Ázsiában is.

Szintén elsőként határoztunk meg PCV1 teljes genomot fertőzött szervből, nevezetesen vaddisznó mintából, azelőtt csak sejtenyészetekből származó vírusok voltak ismertek.

Részt vettünk az első romániai PMWS és PDNS esetek megállapításában és bizonyítottuk, hogy a két kórformát ugyanaz a vírus képes előidézni.

Jelentős szerepet vállaltunk az első román, cseh, lengyel és horvát teljes PCV2 szekvenciák meghatározásában, és megállapítottuk, hogy a közép-kelet európai régióban a PCV2B genotípusba tartozó vírusok terjedtek el.

Elsőként bizonyítottuk, hogy az egerek szájon át fertőzhetők sertés circovírussal, és az egerek ürítik is a vírust, ami alapján megállapítottuk, hogy az egerek igen fontos szerepet játszanak a vírus terjesztésében és fenntartásában

## 7. Publikációk

### CIKKEK:

- CSÁGOLA A.,** KECSKEMÉTI S., KARDOS G., KISS I., TUBOLY T.: Genetic characterization of type 2 porcine circoviruses detected in Hungarian wild boars. Arch Virol. 2006. 151(3) p: 495-507. (IF: 1,850.)
- CADAR D., **CSÁGOLA A.,** DÁN Á., DEIM Z., SPÎNU M., MICLĂUŞ V., KÖBÖLKUTI L., CZIRJÁK G., TUBOLY T.: Porcine circovirus type 2 and associated diseases in Romania. Acta Veterinaria Hungarica, 2007. 55(1) p.:151-156. (IF: 0,474.)
- CSÁGOLA A.,** KISS I., TUBOLY T.: Detection and analysis of porcine circovirus type 1 in wild boars. Acta Veterinaria Hungarica, 2008. 56(1) p.:139-144. (IF: 0,474.)
- CSÁGOLA A.,** CADAR D., TUBOLY T.: Replication and transmission of porcine circovirus type 2 in experimentally inoculated mice. Acta Veterinaria Hungarica, 2008. 56(3) p.: 421-427. (IF: 0,474.)
- BÁLINT Á., TENK M., DEIM Z., RASMUSSEN T.B., UTTENTHAL Á., **CSÁGOLA A.,** TUBOLY T., FARSANG A., BERG M., BELÁK S.: Development of Primer-Probe Energy Transfer real-time PCR for the detection and quantification of porcine circovirus type 2. Acta Veterinaria Hungarica, közlésre elfogadva. (IF: 0,474)
- IVANICS R., **CSÁGOLA A.,** TUBOLY T.: DNS vakcinák, egy újabb lehetőség a fertőző betegségek megelőzésére. Magyar Állatorvosok Lapja 2004. 126. 617-625. (IF: 0,108.)

### SZABADALOM:

- CSÁGOLA A.,** PÉNZES Z., TUBOLY T.: Novel porcine circovirus type 2B isolate and uses thereof. US Serial No. 61/118,505, the filing date of November 28, 2008.

## **8. Köszöntenylvánítás**

Köszönettel tartozom Dr. Tuboly Tamás egyetemi docensnek a témaválasztásban és a kutatási téma kidolgozásában nyújtott hasznos tanácsaiért.

Köszönettel tartozom Herbák Józsefnének a munka elvégzése során nyújtott technikai segítségért.

Továbbá köszönettel tartozom Balka Gyulának, Bálint Ádámnak, Biksi Imrének, Cseh Erikának, Dán Ádámnak, Daniel Cadarnak, Fodor Lászlónak, Kecskeméti Sándornak, Kiss Istvánnak, Lőrincz Mártának, Ursu Krisztinának a segítségükért.

A dolgozat anyagi háttérét a Széchenyi terv NKFP 04/040/2001-es számú Nemzeti Kutatásfejlesztési pályázata, valamint az „ALAPÍTVÁNY A SERTÉS ÁLLOMÁNY VÉDELME” biztosította.