

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A fertőző bronchitis molekuláris epidemiológiai  
vizsgálata**

dr. Hoitsyné Bali Krisztina

Témavezetők: dr. Bányai Krisztián és dr. Bálint Ádám



**ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM**

Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2023.

Témavezetők:

.....

Dr. Bányai Krisztián

Állatorvostudományi Kutatóintézet

.....

Dr. Bálint Ádám

Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság

.....

dr. Hoitsyné Bali Krisztina

## **Tartalomjegyzék**

1. Előzmények.....	3
2. Célkitűzések.....	5
3. Anyagok és módszerek .....	6
4. Eredmények és megbeszélés .....	9
5. Új tudományos eredmények.....	20
1. Az értekezés témájában született közlemények ...	22

## 1. Előzmények

A jelenleg ismert, szimplaszálú RNS genommal rendelkező víruscsaládok közt a *Coronaviridae* képviselteti magát a legtöbb fajjal, melyek közül számos humán és állategészségügyi szempontból fontos. A család, főként madarakat fertőző *Gammacoronavirus* nemzetségének legnagyobb gazdasági jelentőséggel bíró faja a csirkék fertőző bronchitisét okozó *Avian coronavirus* (IBV), mely kortól és patogenitástól függően légzőszervi, kiválasztószervrendszeri, gyomor- bélrendszeri és ivarszervi megbetegedést, felnőtt tyúkokban tojásképződési zavarokat idéz elő.

A vírus az 1930-as években az Amerikai Egyesült Államokban történt első leírása óta világszerte komoly problémákat okoz a baromfiágazatban, és napjaink egyik legjelentősebb baromfi kórokozójaként tartják számon. Hazánkban a fertőzés első előfordulásáról az 1960-as években számoltak be, azóta a vírus számos variánsát azonosították már magyarországi állományokban is.

Az IBV különböző genotípusait és genetikai vonalait (lineage) a tüskefehérjén belül az S1 fehérjét kódoló genomi régió szekvenciájának elemzésével különítik el egymástól. Az egyes törzsek előfordulása földrajzi

területenként különbözik, a megbetegítő képességük, valamint a kiváltott klinikai tünetek is nagy eltérést mutatnak. Ezen felül a vírus magas mutációs rátája és a különböző törzsek közötti rekombináció miatt kialakult rendkívüli variabilitása megnehezíti az ellene való védekezést, beleértve a kontrollt és a megelőző intézkedéseket is.

Az S1 szekvenciák elemzése rendkívül hasznos az IBV genotípusok és leszármazási vonalak azonosítására. Azonban a teljes genomszekvenciák vizsgálata lehetőséget ad a genom teljes szerkezetének és működésének feltárására. Ezenkívül további információt nyújt a vírus terjedésének nyomon követéséhez, átfogó rekombinációs elemzések végzéséhez, valamint a patogenitással és a vakcinatervezéssel kapcsolatos genetikai markerek azonosításához.

Mindezekkel összefüggésben vizsgálataink fő célja a különböző Avian coronavirus törzsek teljes genom szekvencia adatainak gyűjtése és jellemzése volt. A vírustörzsek genomjának összehasonlításával szeretnénk több ismeretre szert tenni a fertőző bronchitis vírus genetikai diverzitásáról, az egyes evolúciós mechanizmusok, például a rekombináció jelentőségéről, és a vizsgált törzsek rokonsági kapcsolatairól.

## 2. Célkitűzések

Munkánk célja a fertőző bronchitist okozó *Avian coronavirus* genetikai változatosságának megismerése:

1. Újgenerációs szekvenálás (NGS) segítségével nagyszámú törzs teljes genomjának meghatározása, amellyel jelentős mértékben hozzájárulhatunk a vonatkozó adatbázis bővítéséhez;
2. A kapott szekvenációk elemzése, az egyes vírustörzsek genomszerveződésének, genetikai diverzitásának és filogenetikai kapcsolatainak feltérképezése és modellezése különböző bioinformatikai szoftverek segítségével. Ily módon információt gyűjthetünk az *Avian coronavirus* evolúciós mechanizmusairól;
3. Új variánsok és genetikai vonalak azonosítása és egyben a ma használatos S1 gén alapú genotipizálási rendszer kiterjesztése;
4. Továbbá, az egyes genotípusok földrajzi megoszlására vonatkozó ismeretek frissítése az újonnan generált adatok felhasználásával.

### **3. Anyagok és módszerek**

#### *Felhasznált vírustörzsek*

A felhasznált vírustörzseket együttműködő partnereink, a CEVA-Phylaxia Oltóanyagtermelő Zrt. és a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatósága (NÉBIH ÁDI) bocsátották rendelkezésünkre allantois folyadék formájában.

#### *A minták feldolgozásához használt molekuláris biológiai módszerek*

A rendelkezésre álló mintákból azok szűrését és emésztését követően nukleinsav kivonást végeztünk az innuPREP Virus DNA/RNA Kit segítségével. A kinyert virális RNS-ről reverz transzkripció (RT) reakcióban, a 3' végén randomizált szakaszt tartalmazó FR26RV-N oligonukleotid használatával készítettünk komplementer DNS (cDNS) másolatot. A cDNS-t ezután polimeráz láncreakció (PCR) segítségével sokszoroztuk fel, melyhez az FR26RV-N primerhez illeszkedő FR20RV primert használtuk. A PCR termékeket agaróz gélelektroforézissel ellenőriztük, a 200-2000 bázispár (bp) közötti sávban lévő termékeket gélkivonásos

módszerrel tisztítottuk. Az így amplifikált és tisztított cDNS-ből könyvtárkészítés után teljes genom szekvenálást végeztünk IonTorrent PGM, illetve Illumina NextSeq 500 újgenerációs szekvenáló platformokon.

### *Bioinformatikai módszerek*

Az újgenerációs szekvenálás során nyert adatok feldolgozása a Geneious Prime szoftver segítségével történt. A kodon alapú többszörös szekvencia illesztéseket Geneious Prime szoftverrel végeztük el. A filogenetikai elemzéseket, illetve a szekvencia azonossági számításokat a MEGA X szoftvercsomag segítségével készítettük el. A filogenetikai fák rekonstrukciójához alkalmazott, legjobban illeszkedő szubsztitúciós modell kiválasztása a Bayesi kritériumrendszer alapján történt. A törzsfák készítése maximum-likelihood módszerrel történt, az elkészült fák megbízhatóságát bootstrap elemzéssel (1000) ellenőriztük. A szekvenciák közti átlagos nukleinsav és aminosav távolságokat a  $p$ -distance módszerrel számoltuk ki. A rekombinációs eseményeket az RDP5 szoftver RDP, GENECONV, Bootscan, MaxChi, Chimaera, SiScan és 3Seq módszereinek segítségével



azonosítottuk. Eredményeinket a SimPlot szoftver használatával is megerősítettük.

### *Adatbázis és adatelemzés*

Az elemzéseket a GenBank adatbázisban található teljes genom szekvenciák és a teljes és közel teljes S1 szekvenciák alapján végeztük és a korábbi kritériumrendszert követve az 1440 nt-nál rövidebb részleges S1 szekvenciákat kizártuk. Végeredményben a vizsgált 3590 S1 gén szekvencia 43 országból 1937 és 2022 között izolált törzsektől származott.

#### **4. Eredmények és megbeszélés**

Vizsgálataink során 102 db, többségében brojlerállományokból származó IBV törzs teljes genomszekvenciáját határoztuk meg. Az egyes genomok mérete ~27 kb volt, mely legalább 11, maximum 13 ORF-et tartalmazott. Néhány törzs esetében hiányzott néhány járulékos fehérjét kódoló gén. A 13 leolvasási keret sorrendje állandó volt (5'-UTR-1a-1ab-S-3a-3b-E-M-4b-4c-5a-5b-N-6b-3' UTR). A vizsgált törzsek genomja minimum 24, de többségében 26 fehérjét kódolt.

##### *Rekombinációelemzés*

A 80 teljes genom szekvencia bevonásával végzett rekombinációelemzés során összesen 215 rekombinációs eseményt azonosítottunk 51 törzsön belül. Vizsgálataink során a rekombinációs események többségét a vad típusú törzsek között, valamint a vad és vakcinatörzsek között mutattuk ki. A SimPlot segítségével legalább 10 olyan eseményt azonosítottunk, amikor az átadott fragmens több mint 99%-os hasonlóságot mutatott a feltételezett vakcinatörzssel. A 99%-ot meghaladó hasonlósági értékekről feltételezhető, hogy a vakcina és a vad típusú törzsek közötti újabb

rekombinációs eseményeket reprezentálják, nagy valószínűséggel az esemény kevéssel megelőzhetette az adott vad típusú törzs tényleges izolációját vagy egybeesett azzal. Elemzéseinkben számos esetben kimutatható volt akár több különböző vakcina törzssel történt rekombináció is.

A detektálható rekombinációs töréspontok a genom teljes hosszán eloszlottak, különösen nagy számban közvetlenül az S gén előtt 5' irányban. Továbbá nagy számú töréspontot figyeltünk meg a genom ORF1ab régiójában; az nsp2, nsp3, nsp12, nsp16, valamint a burok- és membránfehérjéket kódoló génekben is. Rekombinációs hidegpontokat a genom 5' és 3' végének közelében és az S gén nagyobb szakaszán azonosítottunk. Elemzéseink során azt találtuk, hogy a rekombináció rendkívül gyakori és a genom szinte minden régióját érinti. A virális replikációhoz létfontosságú nem szerkezeti fehérjéket kódoló ORF 1ab régióban történő rekombináció befolyásolhatja a vírus patogenitását. A virionok összeszereléséhez nélkülözhetetlen burok és membrán fehérjékben bekövetkező változások befolyásolhatják a vírusrészecskék képződésének és a vírus terjedésének hatékonyságát. A vizsgált IBV törzsek többségükben térben és időben is izoláltak voltak, emiatt

a rekombinációs események időbeli sorrendjét nem lehetett megállapítani. Ennek ellenére az európai eredetű vad, illetve vakcina IBV törzsek közötti rekombinációs események genotípus specificitástól függetlenül gyakorinak bizonyultak.

A több mint 600 teljes S1 szekvencia illesztésével végzett rekombinációelemzés során összesen 39, az S1 gént érintő rekombinációs eseményt sikerült azonosítani, melyek nagy része genetikai vonalak között, kisebb hányada pedig az egyes genetikai vonalakon belül zajlott le. A genom ezen régiójában bekövetkező változások az IBV új genotípusainak és szerotípusainak megjelenését is eredményezhetik.

### *Hasonlósági és leszármazási kapcsolatok az S1 gén alapján*

A vizsgált törzsek filogenetikai besorolása során a GI genotípus 11 genetikai vonalának képviselőit azonosítottunk, melyek közül a leggyakoribb a GI-19 vonal volt. A fennmaradó törzseket a GI-23, a GI-16, a GI-13, a GI-1, a GI-21, a GI-27, a GI-9, a GI-14, a GI-11, és a GI-25 vonalakba soroltuk. Ezen felül négy törzs rekombinánsnak (D1623/1/1/11/HU, D2584/12/1/13/PH, D3386/1/2/16/SA, 211776/Imrehegy/2011), négy pedig

egyedi variánsnak (D2334/11/2/13/CI, D2804/3/3/13/ID, D2586/4/6/13/PH, D3276/4/2/16/PH), bizonyult.

A D1623/1/1/11/HU, D3386/1/2/16/SA és D2584/12/1/13/PH rekombináns törzsek a teljes S1 nukleotid szekvenciája alapján készült filogenetikai fán a GI-19 vonal tagjai közelében, ám külön ágon csoportosulnak. Az S1 alapú rekombinációelemzés során megállapítottuk, hogy az említett törzseket érintő rekombinációs eseményekben minden esetben részt vett egy-egy GI-19 vonalba tartozó „szülői” szekvencia. Valamint a GenBank-i szekvenciák közül GI-19 vonalakba tartozó referenciákkal mutattak 90% feletti nukleotid azonosságot. A filogenetikai fán a GI-13 és GI-21 vonalak tagjai közelében, ám külön ágon elhelyezkedő, rekombináns 211776/Imrehegy/2011 törzs a saját gyűjteményből egy GI-21 vonalba tartozó, míg a GenBank-i referencia szekvenciák közül a GI-13 vonalba tartozó törzsszel mutatott magas (87,88 és 88,56%) hasonlóságot.

Az egyedi variáns törzsek a filogenetikai elemzések alapján nem csoportosulnak egyik korábban meghatározott genotípus genetikai vonalának referencia törzseivel sem. A két Fülöp-szk.-i származású egyedi variáns törzs (D2586/4/6/13/PH és D3276/4/2/16/PH)

teljes S1 gén nukleotid szekvenciája között nagyfokú (98,70%) hasonlóságot figyeltünk meg, míg a törzsfán hozzájuk legközelebb elhelyezkedő indonéz egyedi variánssal (D2804/3/3/13/ID) összehasonlítva csupán 83,78 és 84,22% ez az érték. Filogenetikai elemzéseink alapján a két Fülöp-szk.-i variáns jobban hasonlít egymáshoz, mint bármely más törzs, ami közös evolúciós eredetre utal. Az elefántcsontparti variáns törzs (D2334/11/2/13/CI) leginkább a saját törzsgyűjteményből származó GI-21 vonalba tartozó marokkói törzsrre, míg a GenBank-i referencia szekvenciák közül az orosz származású egyedi variáns RF/01/99 törzsrre hasonlított leginkább (78,11%). Azonban a filogenetikai elemzések alapján a két egyedi variáns nem alkot monofiletikus csoportot, így közös genetikai vonalat sem. Az elefántcsontparti egyedi variáns törzs a filogenetikai fán az Afrikában regionálisan őshonos és elterjedt GI-26 genetikai vonal tagjaival csoportosul, ám az S1 gén nukleotid hasonlósági értékek csupán a 78%-ot érik el.

#### *Az S fehérje aminosav szintű elemzése*

Az S1 régióban megfigyelt aminosav változások szerepét és a fertőzőképességre gyakorolt hatásait nehéz meghatározni, de a rekombináns fehérjékkal végzett

kísérletek eredményei alátámasztják, hogy az S fehérje, főként a receptor kötő domén (RBD) aminosav-összetétele hatással van a szervotropizmusra. Mivel ezek a régiók fontosak a sejtropizmus meghatározásában, vizsgálataink során kitértünk a régióban található aminosav motívumok elemzésére is.

Az RBD régióban a vonatkozó szakirodalmi adatok alapján az M41 törzs légcsőhöz való kötődéséhez szükséges, kiemelt jelentőségű aminosavak vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a légzőszervrendszeri tüneteket mutató madaraktól izolált törzsek aminosav szekvenciája egy esetben sem egyezett meg a referencia M41 törzsével. Elemzéseink során külön kitértünk más tünetegyüttest mutató madaraktól izolált törzsek motívumaira is. A kiemelt aminosav pozíciókban megfigyelhető szekvencia és a feltételezett szövettropizmus közt azonban nem találtunk összefüggést, a különböző tünetegyütteseket mutató madaraktól izolált törzsek szekvenciáiban nem ismerhető fel egységes mintázat. Sőt, számos, különböző tünetegyüttest mutató madárból származó törzs aminosav szekvenciája megegyezett a vizsgált pozíciókban.

Korábbi rekombináns fehérjékkel végzett kísérletek eredményei alapján a QX nefropatogén törzs RBD 99-159. aminosavait magában foglaló régió, különös tekintettel az M41 törzs <sup>110</sup>MLQ<sub>112</sub> aminosav motívumának megfelelő pozíciókban található <sup>110</sup>KIP<sub>112</sub> aminosavak szükségesek a vese sejtjeihez való kötődéshez. Ezért elemzéseink során kitértünk ennek a régióknak vizsgálatára is. Elemzéseink során azonban a kiválasztószervrendszeri tüneteket és elváltozásokat mutató állatokból származó IBV törzsek egy esetben sem mutatták a QX törzs <sup>110</sup>KIP<sub>112</sub> aminosav motívumát. Ezért a vizsgált törzsek esetében sajnos nem tudtuk igazolni a kiemelt pozíciókban található aminosav szekvenciák és az okozott tünetegyüttes összefüggéseit.

Összességében az egyes pozíciókban azonosított aminosav szubsztitúciók általában az egyes genetikai vonalakhoz voltak köthetőek, a törzsek feltételezett szervtropizmusa és a motívumok között a vizsgálatba bevont törzsek esetében nem találtunk összefüggést. Az adott pozíciókban tapasztalt eltérő aminosav szekvenciák azonban nem feltétlenül eredményezik az adott törzs gyengébb kötődését vagy fertőzőképességének csökkenését.



### *Az IBV genetikai vonalainak földrajzi elterjedése*

Az IBV ismert genotípusai (GI-GVIII) közül a GI genotípusba tartozó törzsek a legváltozatosabbak és az irodalmi adatok alapján a legelterjedtebbek. A dolgozatban alapvetően a GI genotípusú törzsek elemzését végeztük el.

A GenBank adatbázisban elérhető összesen 3590 IBV S1 gén szekvencia túlnyomó része, 66,1%-a Ázsiából izolált törzsektől származik, az ázsiai törzsek 88,4%-a pedig kínai eredetű. A fennmaradó szekvenciák származási hely alapján történő megoszlása a következőképpen alakult: 12,7% Észak-Amerika, 1,9% Közép- és Dél-Amerika, 6,5% Európa, 4,9% a Közel-Kelet, 1,8% Afrika, 1,7% pedig Ausztrália és Új-Zéland területéről származott. Elemzéseink során a GenBank adatbázisban elérhető szekvenciákat a saját törzsgyűjtemény 102 szekvenciájával is kiegészítettük. Így a genotípusok és genetikai vonalak megoszlását további 8 afrikai (Dél-Afrikai Köztársaság, Elefántcsontpart, Ghána, Kamerun, Szudán), 21 ázsiai (Fülöp-szk., Indonézia, Távol-Kelet), 31 európai (Fehéroroszország, Görögország, Hollandia, Lengyelország, Magyarország, Oroszország, Portugália, Románia, Törökország, Ukrajna), 3 észak-amerikai

(USA), 7 közép- és dél-amerikai (Argentína, Brazília, Mexikó, Peru), valamint 32 közel-keleti (Egyesült-Arab Emírségek, Egyiptom, Irán, Jordánia, Libanon, Marokkó, Szaúd-Arábia) eredetű törzs bevonásával vizsgáltuk.

Összességében elmondható, hogy noha a világszerte elterjedt GI-1 vonal Ausztrália és Új-Zéland kivételével mindenhol előfordult, az összes genotípusba sorolható törzs közül csupán 8,2%, a dolgozatban vizsgált 102 törzs közül három sorolható a vonalba. Az Afrika és Ausztrália kivételével mindenhol előforduló GI-13 vonalba a genotipizált törzsek 9,3%-a, a saját törzsek közül 7, észak-amerikai, közel-keleti és távol-keleti származású sorolható a vonalba. Az Észak-Amerika és Ausztrália területét leszámítva globálisan elterjedt GI-16 vonalba pedig csupán a 0,9%-a. A saját törzsgyűjteményből számos afrikai és közel-keleti, valamint dél-amerikai eredetű törzs sorolható ebbe a vonalba (13/102). A GenBank adatbázisban található szekvenciák jelentős hányadát a globálisan elterjedt GI-19 vonalba tartozó törzsek teszik ki (42%). A saját törzsgyűjtemény tagjai közül számos európai, afrikai és közel-keleti, valamint távol-keleti eredetű törzs a GI-19 vonal képviselőjének bizonyult (42/102). Az Európában és a Közel-Keleten uralkodó GI-23 vonalba a törzsek 4,7%-a, a dolgozatban

vizsgált minták közül, 15 többségében közel-keleti származású törzs sorolható a vonalba. A GI-23 genetikai vonalba tartozó törzsek térhódítására utal, hogy a GenBank adatbázisban elérhető 164 teljes S1 gén és 8 teljes genom szekvencia közel 95%-a a közelmúltból származik.

A globálisan elterjedt vonalak mellett számos, regionálisan elterjedt őshonos genetikai vonalat is azonosítottunk a törzsgyűjteményben. Az európai kontinensen három vonalat tekintünk őshonosnak, a GI-21, valamint a GII-1 és GII-2 vonalakat, bár az utóbbiakról meglehetősen kevés ismeret halmozódott fel. A saját törzsgyűjteményünkben található három GI-21 törzs is romániai, illetve marokkói származású. Jelenlegi ismereteink szerint szigorúan Ázsia területére korlátozódik hét leszármazási vonal és két genotípus. Ezek a következők: GI-7, GI-15, GI-18, GI-22, GI-24, GI-28, GI-29, GVI-1 és GVII-1. Számos genotípus és vonal tekinthető őshonosnak Észak-Amerika területén (GI-8, GI-9, GI-17, GI-20, GI-25, GI-27 és GIV-1), azonban ezek közül csak a GI-9, GI-27 és GIV-1 vonalba tartozó törzsek tudtak széles körben elterjedni. A saját törzsgyűjteményünkben található észak-amerikai eredetű törzsek többségében a GI-27 vonalba tartoznak. Valamint

azonosítottunk egy-egy GI-9 és GI-25 vonalba sorolható mexikói eredetű törzset is, mely a vonal új előfordulásának számít. Az egyik kizárólag Dél-Amerika területén előforduló vonal a GI-11, mely napjainkban is uralkodó típusnak számít a régióban és a saját gyűjteményünkéből is egy brazíliai eredetű törzs sorolható a GI-11 vonalba. A GI-26 vonal egy egyedi afrikai csoport, melybe a GenBank adatbázis alapján 2006 és 2007 között Nigériában és Niger területén izolált törzsek tartoznak csupán. Ausztrália és Új-Zéland területén főként a földrajzi elszigeteltségüknek köszönhetően az IBV evolúciója a világ többi részétől függetlenül zajlott, számos egyedi, csak itt előforduló variánst eredményezve (GI-5, GI-6, GI-10, GIII és GV). Az elszigeteltség miatt a globálisan elterjedt GI-1 vonal itt nem is fordul elő, valószínűleg mert mindig is saját izolátumokból származó vakcinatörzseket használtak a kereskedelmi forgalomban kapható általános import készítmények helyett.

## 5. Új tudományos eredmények

1. Munkánk során 102 izolátumból álló Avian coronavirus törzsgyűjteményt jellemeztünk teljes genom szekvencia meghatározással. Eredményeink rávilágítottak az Avian coronavirus evolúciós mechanizmusában fontos szerepet játszó rekombináció jelentőségére. Elemzéseink során a genom számos régióját, köztük az S1 gént érintő rekombinációs eseményt sikerült azonosítani.

2. Meghatároztuk öt új, magyarországi eredetű, GI-1 és GI-19 vonalakba tartozó IBV törzs teljes genom szekvenciáját. Valamint azonosítottunk egy S génben rekombináns törzset is, mely többszörös rekombinációs események eredményeként jöhetett létre, és a legnagyobb hasonlóságot GI-13 és GI-21 vonalakba sorolható törzsekkel mutatta.

3. Vizsgálatunkban az nsp8 és nsp12 génekben találtunk új rekombinációs forrópontokat, valamint a genom 5' és 3' végének közelében és az S gén nagyobb szakaszán rekombinációs hidegpontokat azonosítottunk.

4. Elsőként azonosítottunk új egyedi variáns törzseket a Fülöp-szigetek, Elefántcsontpart és Indonézia területéről,

melyek a többi referencia törzstől nagymértékben eltérő genom szekvenciájuk alapján akár egy-egy új genetikai vonal első képviselői lehetnek. Valamint Afrika és Közép-Amerika területén eddig le nem írt genetikai vonalakat találtunk (Elefántcsontpart GI-16, Mexikó GI-9, GI-25).

5. A GenBank adatbázisban elérhető teljes genom és teljes S1 szekvenciák, valamint a saját törzsgyűjtemény felhasználásával kiterjesztettük a ma használatos S1 gén alapú genotipizálási rendszert. Ezen kívül, saját adataink integrálásával frissítettük az egyes genotípusok földrajzi megoszlására vonatkozó ismereteket.

6. A dolgozatban vizsgált peptid motívumok tekintetében a szakirodalmi adatokkal ellentétben az egyes aminosav pozíciókban megfigyelhető szekvencia és a feltételezett szövettropizmus közt nem találtunk összefüggést. Eredményeink szerint a vizsgált motívumok leginkább a genetikai vonalak alapján és nem az okozott tünetek szerint rendeződnek, ezért a szövettropizmusért felelős aminosavakat nem sikerült azonosítani.

## 6. Az értekezés témájában született közlemények

1. Bali, K, Bálint, Á, Farsang, A, Marton, S, Nagy, B, Kaszab, E, Belák, S, Palya, V, Bányai, K, **Recombination events shape the genomic evolution of infectious bronchitis virus in europe.** Viruses 13(4), 535. 2021. <https://doi.org/10.3390/v13040535>
2. Bali K, Kaszab E, Marton Sz, Hamdiou SH, Bentaleb RK, Kiss I, Palya V, Bányai K, **Novel lineage of infectious bronchitis virus from Sub-Saharan Africa identified by random amplification and next-generation sequencing of viral genome.** Life 14(4), 475. 2022. <https://doi.org/10.3390/life12040475>
3. Bali K, Bálint Á, Bányai K, **A csirkék fertőző bronchitisét okozó coronavirus genetikai vonalainak földrajzi elterjedése.** Magyar Állatorvosok Lapja, 144. 673-690. 2022.