

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI KUTATÓINTÉZETE

1581 Budapest, Postafiók 18

Tel: 467-4060 Fax: 467-4076

E-mail: harrach@vmri.hu

Honlap: www.vmri.hu

Beszámoló a 2007. évi tudományos tevékenységről

I. A Kutatóintézet fő feladatai a beszámolási évben

Az Intézet a hazai állatorvos-tudomány egyetlen főhivatású kutatóhelye, e terület molekuláris mikrobiológiai kutatási bázisa. Legfőbb feladata alapkutatások végzése az állategészségügyi szempontból jelentős kórokozók (vírusok, baktériumok, paraziták) jobb megismerésére. További feladat az eredmények gyakorlatban való hasznosításának előkészítése, korszerű és hatékony diagnosztikai módszerek, vakcinák és védekezési eljárások kidolgozása. A kutatás mellett a kutatók jelentős szerepet vállalnak az agrár- és természettudományi felsőoktatásban, főleg a posztgraduális (PhD) képzésben, valamint állatorvosok továbbképzésében is.

A *virológiai témacsoportok* fő kutatási területe a háziállatok néhány jelentősebb vírusos fertőzöttsége. A kórokozó vírusok immunológiai tulajdonságainak és genomjuk molekuláris szintű elemzése megteremti az alapjait új típusú diagnosztikai módszerek és vakcinák kidolgozásának, molekuláris járványtani vizsgálatoknak, illetve a filogenetikai viszonyokat hűen tükröző rendszertan kialakításának. A *bakteriológiai és mycoplasmatológiai témacsoportok* feladata az egyes, közegészségügyi és állategészségügyi, valamint összehasonlító kórtani szempontból fontos baktériumok (*Salmonella*, *E. coli*, *Bordetella*, *Pasteurella*) és mycoplasmák virulenciájának és a virulencia genetikai hátterének vizsgálata, valamint ezen ismereteknek a védekezésben és a diagnosztikában való hasznosítása, különös tekintettel az élelmiszerbiztonságra és az állatról emberre terjedő betegségek megelőzésére. A *halkórtani és halparazitológiai témacsoportok* feladata a természetes vizekben élő halak, elsősorban a Balaton és vízrendszere, a Duna, valamint tógazdaságok halainak rendszeres vizsgálata a paraziták által okozott károsodások felmérésére, valamint a nyálkaspórák élősködők fejlődésének, kórtanának és változatosságának kísérletes és molekuláris vizsgálata. A témacsoport feladata a halélősködő kokcidiumok előfordulására, fejlődésére, kórtanára és gazda-fajlagosságára vonatkozóan kutatás, valamint halélősködők vízből és köztigazda szervezetekből való gyors kimutatására szolgáló gyorsdiagnosztikai módszer kifejlesztése.

II. Az év folyamán elért kiemelkedő kutatási és más jellegű eredmények, azok gazdasági-társadalmi haszna

Virológiai kutatások

Adenovírus genomszekvenciák vírusvektorok előállításához

Az adenovírusok sikeres génkifejező rendszerek, ígéretes génterápiás eszközök; gazdasági állatok immunizálásához korszerű, tetszőleges idegen géneket szállító vírusvektorok lehetnek, mivel a módosított vírusokat élő formában, szájon át lehet adagolni. Humán gyógyászati felhasználás tekintetében probléma, hogy szinte mindenki hordoz a humán adenovírusok több típusával szembeni ellenanyagokat, ami gyakran megghiúsítja az alkalmazott adenovírus (AdV) vektorok kívánt mértékű szaporodását. Megoldás lehetne olyan állati AdV alkalmazása, mely a humán populációban nem fordul elő, ezért specifikus ellenanyag sincs a kezelendő személyekben. Ezen vírusok az emberben produktívan nem szaporodnak, de rendszerint lezajlik egy abortív replikációs ciklus, melynek során a kívánt gén kifejeződhet. Állatoknál az egyes fajokban saját adenovírusukat kellene alkalmazni, hogy képes legyen jól szaporodni. Ehhez szükséges minél több állati AdV DNS szekvencia szintű megismerése. Nagy gazdasági jelentősége van a pulykaállományokban világszerte, így hazánkban is gyakori, súlyos betegségnek, a pulykák vérzéses bélgyulladásának, amit egy különleges, rendszertani szempontból nem valódi madár-AdV (THEV) okoz. A kórokozót hatásosan csak élő állatban (napos csibében) vagy malignusan transzformált sejtekben lehet szaporítani, ráadásul a vakcinatörzsek időnként elszabadulnak és maguk is enyhébb betegséget idéznek elő. A pulykákban és szövettényezetben is jól szaporodó, de betegséget nem okozó valódi pulyka-AdV-t át lehetne úgy alakítani, hogy a THEV immunvédelem szempontjából legfontosabb antigénjeit kifejezze. A rekombináns vírus, élő vakcinaként könnyen adagolható lenne például egyszerűen az ivóvízzel is. Libákat is lehetne immunizálni így, saját adenovírusuk megfelelő módosításával. Ezért elvégezték egy-

egy hazai izolálású pulyka- és liba-AdV teljes DNS szekvenciájának meghatározását, a genomok bioinformatikai értelmezését, és a potenciálisan törölhető, manipulálható részek azonosítását összehasonlító genomikai megközelítéssel. Az alkalmazott módszerek: véletlenszerű, majd célzott molekuláris klónozás, a megismert szekvenciákon alapuló primerekkel végzett □genom-sétálás□ (pulyka-AdV), véletlenszerű (□shot-gun□) szekvenálás (liba-AdV), a hiányzó szakaszok PCR-es sokszorozása. A szekvenciákat bioinformatikai programokkal (Gap4, blast, FGenesV, MultiAlin, Phylip, stb.) is ellenőrizték. A rendelkezésre álló AdV-genomok összehasonlító értelmezésével és irodalmi adatok alapján azonosították a nélkülözhetetlen, valamint a várhatóan törölhető, helyettesíthető virális géneket. A liba-AdV genom 43.450 bp hosszú, átlagosan 44,63% G+C aránnyal. A pulyka-AdV 45.396 bp, meglepően magas (66,84%) G-C aránnyal. Mindkét genom középső része az adenovírusokra jellemző, 16 megőrzött gént tartalmazza. A liba-AdV-ban két fiber gén található. A genomok végei az adenovírusokban általában nemzetség specifikusak. A pulyka-AdV genom jobb végén az 1-es szerotípusú tyúk-AdV egyes génjeivel azonos eredetű gének találhatók (lipáz, ORF8, -9, -11, -17 és -26), míg a liba-AdV-ban két lipáz génhöz hasonló gén is található, melyeket több, ismeretlen funkciójú, újszerű gén követ a genomvég irányában. Különböző génekkel végezve törzsfajlódási számításokat, a pulyka-AdV a tyúk-adenovírusok közeli rokonának bizonyult, míg a liba-AdV egy külön fejlődési vonalat képviselt. A lúd-alakúak és tyúk-alakúak adenovírusainak elkülönülése logikus a vírusoknak a gazdáival való közös evolúciójából kiindulva. Az 1-es és 10-es típusú tyúk-AdV korábban nélkülözhetőnek/kivághatónak bizonyult génjeinek megfelelő (a genom jobb végén található) gének feltehetően alkalmasak idegen (kifejezendő) génekkel való helyettesítésre a két vizsgált vírusról is. Bioinformatikai ellenőrzés után a két megállapított genomra először hazai szabadalmi oltalmat próbálnak nyerni, majd ipari partnert keresnek, ilyen vírusokon alapuló vektorok kifejlesztéséhez, vakcinaként vagy gyógyászati terméként való értékesítéséhez. A korábban nem jellemzett, feltehetően a sejtciklust is manipuláló virális fehérjék génjeire vonatkozó új ismereteiket megkísérik esetleges gyógyászati célokra is felhasználni (pl. citosztatikus hatás). Hét fő intézeti dolgozó munkája; 10 MFT ráfordítás (a magyar társadalom és gazdaság versenyképességét elősegítő többlettámogatások terhére).

Új adenovírusok azonosítása

Nagyszámú vadmadárból mutattak ki ismeretlen adenovírusokat ún. általános AdV PCR segítségével. Hazai, osztrák és svájci minták mellett több száz svéd mintát is megvizsgáltak, melyekből több, egymástól eltérő sirály-AdV-t is kimutattak (melyek némelyike megegyezett hazai sirály-adenovírusokkal). Gazdaságilag fontos, hogy galambokban és fácánban is találtak eddig ismeretlen AdV-t, mely a galamboknál feltehetőleg megbetegedést és elhullást is okoz (vizsgálat az Országos Állategészségügyi Intézet baromfi-kórtani szakembereivel). A hazánkban újra megjelent aranysakából 2-es szerotípusú kutya-AdV-t, míg ékszerteknősből egy minden eddig ismerttől meglehetősen távoli AdV-t mutattak ki. Adatbázisuk alapján immár azonosíthatók az új AdV-k. A vírus-nyomozás kiterjeszhető a nagyon értékes postagalambokra is. Külföldi laboratóriumokból is egyre több minta érkezik. (5 fő, ebből 3 intézeti dolgozó; kb. 2 MFT ráfordítás: NKTH Öveges József pályázat, OTKA).

Madárinfluenza-vírusok

A súlyos, ázsiai H5N1 avian influenza (AI) megjelenése ráirányította a figyelmet régebbi esetekre is, ezért a □70-es évekből fennmaradt hazai AI-vírus (AIV) törzsek egyes génjeit (HA, NA és NS) filogenetikai elemzésnek vetették alá. Elsősorban azt a fontos *epidemiológiai* kérdést tanulmányozták, hogy vajon a baromfiállományokban időről-időre jelentkező fertőzések közvetlenül vad vízimadaraktól eredhetnek-e (ez még ma is elterjedt nézet), vagy a vírus már megtelepedett valamelyik házi baromfifajban, amelyben mesterséges rezervoárt is létre hozott. A vírusokat annak idején olyan házikacsa- és gyöngytyúk-állományokból izolálták, amelyekben viszonylag súlyos légzőszervi megbetegedéseket észleltek. Az AIV-törzsek részletes egyedi jellemzésén kívül, a következő fontosabb megállapításokat tették. a., A HA-fehérje aminosav-szekvenciája alapján megállapították, hogy a régi H5- és a H7-szubtípusú törzsek mindegyike a *mérsékelt* patogenitási kategóriába tartozott. b., Egyes szubtípusok európai, mások mind európai, mind távol-keleti rezervoárból származtak. c., A vírusok között olyan nagy arányban fordultak elő, gyors géncserék eredményeképpen, fiatal reasszortánsok, hogy ezek vadmadár eredete kizárható volt, mert a jelenség kifejezetten arra utal, hogy a törzsek *mesterséges* (azaz házikacsa által fenntartott) vírusrezervoárokból származtak. (Két fő, ebből 1 intézeti dolgozó; kb. 0,5 MFT ráfordítás.)

EU FP6 program (Novel AI DIVA recombinant vaccines for ducks) keretében három rekombináns vakcina ártalmatlanságát vizsgálták. Kidolgozták a néma kacsák izolátorban való tartás technológiáját, a meglévő izolátorokat átalakították. A vizsgált vakcinák ártalmatlanok voltak és jól mérhető immunreakciót váltottak ki. Eredményeik alapján kiválasztják a legalkalmasabb vakcinát és a

konzorcium tagjaival gyakorlati követelményeknek is megfelelő vakcinázási módszert dolgoznak ki. (3 fő /2 intézeti/ 8,5 Mft)

Herpeszvírusok

Tokhal-herpeszvírus genomjának már kb. 60.000 bázispárnyi szekvenciáját határozták meg. Ez 36 gén ill. ORF (ismeretlen funkciójú, potenciálisan fehérjét kódoló szakasz) teljes és 7 gén/ORF részleges szekvenciája. Az azonosított ORF-ek méret, irányultság és lokalizáció tekintetében megegyeznek vagy hasonlóak a foltos csatornaharcsa-herpeszvírus (IcHV-1) megfelelő ORF-jeivel a következő 3 kivételtől eltekintve. a., Az IcHV-1 ORF 24 és 25 megfelelője között egy plusz gént (szerin-proteáz) találtak. b., Az IcHV-1 ORF 41 homológja a fehér tok-herpeszvírusban ellentétes irányultságú. c., Az ORF 65-nek megfelelő gén jelentősen hosszabb, mint az IcHV-1-ben. A hal-herpeszvírusok DNS polimeráz génjére tervezett, degenerált primer párral, PCR-rel egy kb. 1.700 bp méretű genomszakaszt nyertek Olaszországból kapott, fekete törpeharcsából izolált herpeszvírusból. Egy másik 1.700 bp méretű PCR termék az IcHV-1 ORF 72-vel mutat hasonlóságot. Diagnosztikai módszerükkel (elsőként hazánkban) szekvencia szinten azonosították a pontyhímlő herpeszvírusát megbetegedett hazai tenyésztett pontyokból. (3 fő intézeti dolgozó; 2 Mft, OTKA.)

A herpeszvírusok sokszínűségének és különbségeinek felderítésére eddig ismeretlen és minél különlegesebb herpeszvírusokat keresnek vadonélő és állatkerti, megbetegedett vagy elhullott állatokban. A herpeszvírusok általános kimutatására ajánlott, kétkörös (nested) PCR alkalmazásával vizsgált 100 madár- és 11 hulló-minta negatív volt, míg 20 emlős-mintából négy pozitív. Nílusi repülőkutyaiban a *Betaherpesvirinae* alcsalád feltehetően új genusának tagját találták.

A *Gammapherpesvirinae* alcsaládot képviseli egy fehérarcú selyemmajom lymphocryptovirusa, valamint kiskarmú vidra és közönséges kései denevér rhadinovirusa. Ez utóbbit német kutatók is éppen most mutatták ki, míg a másik három herpeszvírus feltehetően új típus. (4 fő, 3 három intézeti dolgozó; 0,5 Mft OTKA, NKTH Öveges József pályázat.)

Egyes vírusoknak a szarvasmarhák szaporodási zavaraiiban, embriófelszívódásában játszott szerepét vizsgálták két telepen. Az egyikben szaporodási mutatókat és a tejtermelést javító gyógy-takarmányt etettek. Feladatuk az 1-es típusú szarvasmarha-herpeszvírus (BoHV-1) és a szarvasmarhák vírusos hasmenését okozó vírus (BVDV) kimutatása volt PCR-rel (BVDV-nél RT-PCR) a telepeken 30 és 100 tehenet vizsgálva.. A vérmintákban BVDV pozitivitás az egyik telepen 7%, a másikon 6,66% volt, IBR-t 13% és 40%-ban találtak. A pozitív állatok nem mutattak rosszabb szaporodási mutatókat a telep átlagánál. (2 fő, 1,6 Mft, NKFP.)

Kullancsok vírusfertőzöttsége

Kullancsok által terjesztett zoonotikus jellegű betegségek felmérő vizsgálatát végezték. Az ország 6 meghatározott helyéről 9 hónapon át havonta kullancsmintákat gyűjtöttek és hőmérsékleti adatokat rögzítettek. 174 felnőtt példányt, 1220 nimfát és 185 lárvát gyűjtöttek. Ezek száma alacsonyabb volt a tavalyinál, valószínűleg a nyári szárazság miatt. Meghatározták a faji összetételt, szezonális görbét vettek fel minden helyen. A kullancsok kórokozókra irányuló PCR vizsgálata a különböző országokban egységes diagnosztikai módszerrel 2008-ban fog történni. (Két intézeti kutató, 0,6 Mft, EU FP6.)

Marek-féle betegség vírusa

Kísérletben ellenőrizve a Marek-betegség elleni vakcinázás hatékonyságát megállapították, hogy a forgalomban lévő azonos típusú vakcinák hatékonysága között jelentős eltérés lehet. A Delawari Egyetemmel együttműködve, Magyarországon korábban (1972-1982) izolált Marek-betegség vírusok DNS-ét sikeresen transzfektálták csirke sejtekbe. E vírusok BAC klónozását tervezik. (Öt fő, ebből 3 intézeti, kb.13 Mft).

Bakteriológiai és mycoplasmatológiai kutatások

Mycoplasma

A Mycoplasma fertőzés idült légzőszervi betegséget okoz. Úgy vélték, hogy a mycoplasmák a légutak nyálkahártyasejtek membránján találhatók. Kísérletekkel igazolták, hogy a *M. gallisepticum* különböző adhezinek segítségével szorosan kapcsolódik a gazdasejt membránjához, ahol Ca ++ ionok elvonása következtében károsítja a csillók mozgását és struktúráját. Glikolipidek, heparinkötő, glikoproteinkötő molekulák segítségével gyakorlatilag fuzionál a gazdasejttel. Az aminosav és zsírsav szintézisben, nukleinsav prekursor képzésben szereplő enzimek hiánya miatt ezeket a tápanyagokat a gazdasejttől veszi el. Saját enzimeik (pl. endonukleázok, anyagcseretermékek) károsítják a gazdasejt funkcióját (csillók mozgásának leállása, károsodása). Jelentős limfocita beszűrődés miatt a légutak nyálkahártyája megduzzad, a tüdőben az alveolusok közötti kötőszövet megvastagszik, a bronchusok és vérerek környéki kötőszövet limfocitákkal való telítődik. A mycoplasmák behatolnak a véráramba, heparinkötő molekulái révén megtámadják a vörösvérsejteket (anémia). A vörösvérsejtekkel elkerülnek a különböző

szervekbe, egyben, a vörösvérsejtekhez tapadva védetté válnak antibiotikumokkal és ellenanyagokkal szemben. Poliszacharid részecskékre kötött *Mycoplasma antigének* csirkékbe juttatva főleg TLR2 receptort stimulálnak (kevésbé TLR1 és 3-at). Különböző TLR antagonisták kombinációval a stimuláló hatást többszörösére lehetett emelni az egyedi TLR antagonisták hatásához képest. E hatás monocitákon mért INF gamma, TNF alfa, IL-2, -4, -6, -10 és -12 alapján mérhető. Optimális TLR antagonisták kombinációk és *Mycoplasma antigének* a poliszacharid részecskékre való kötődésével és ezzel a csirkék kezelésével emelni lehetett az állatok ellenálló-képességét virulens *Mycoplasma*-val való fertőzés ellen. (6 fő, /5 intézeti/, kb. 1,5 MFt, együttműködés ipari partnerekkel)

Pasteurella kutatások

Nagyszámú, különböző madárfajból izolált *P. multocida* törzset jellemeztek. Elvégezték a korábban vizsgált, különféle baromfi fajokból származó, eltérő tulajdonságú, reprezentatív *P. multocida* izolátumok ERIC-PCR-rel (enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR) kapott mintázatának számítógépes cluster analízisét. Vizsgálataikba Magyarország különböző régióiból származó liba, kacska, pézsmaréce, pulyka, csirke és fácán *P. multocida* törzseket vontak be. Az izolátumok 67%-a *P. multocida* ssp. *multocida* alfaj, a fennmaradó törzsek *P. multocida* ssp. *septica* alfajúak voltak. Hét különböző biotípus (1-7) előfordulását tudták kimutatni a törzsek között. Leggyakoribbak az 1 (25%), a 3 (20%) és a 6 (21%) biotípusok voltak. A törzsek többsége (93,5%) az A buroktípusba tartozott, csak elvétve (6,5%) fordult elő F buroktípus. Az ERIC-PCR-rel 75%-os hasonlósági szint mellett az izolátumok négy, jól elkülönülő csoportba voltak sorolhatók. A pézsmarécét magába foglaló csoport nagymértékben elkülönült a többi izolátumtól. Ilyen mértékű különbségekre a fenológiai bélyegek vizsgálata nem utalt. További két csoport pulyka, tyúk és fácán izolátumokat foglalt magában. A két csoport gazdafaj összetétele ugyan megegyezett, de földrajzi eredete merőben eltért. A negyedik csoport egyaránt tartalmazott liba és kacska izolátumokat és további négy alcsoportra és két mini csoportra volt osztható. A három alcsoport elsősorban liba izolátumokat foglalt magába és a Tisza felső folyása mentén képviseltek három viszonylag jól elkülönülő területet. A fennmaradó két csoport kacska eredetű törzsei a Duna-Tisza közén két átfedő, de feltehetőleg klonálisan elkülönülő két egységet alkottak. Az ERIC-PCR mintázat az izolátumokat mind gazdafaj-csoportok, mind földrajzi eredet szempontjából elkülönítette, tehát alkalmasnak tűnik a gazdafaj adaptáció, valamint a baromfikolera járványtani vizsgálatára is. A *P. multocida* törzsek külsőmembrán fehérje mintázatának összehasonlítása során a megvizsgált 61 baromfi *Pm* törzs elemzésekor az alábbi következtetéseket vonták le: a., a törzsek 10 eltérő OMP csoportba tartoztak; b., 57 db besorolható a leírt típusokba; c., több új OMP csoport is található (csirke, ill. fácán törzsek); csoporton belül gazdaspecifikusság van; d., az ERIC-PCR képpel nincs korreláció.

Magyarországi nyúlállományokból az elmúlt 20 évben izolált 76 *P. multocida* törzs hagyományos biokémiai és molekuláris biológiai elemzésekor a törzsek 67%-a *P. multocida* ssp. *multocida*-nak bizonyult. Többségük 1-es és 3-as biotípusú vagy kisebb arányban ennek trehalóz- és laktóz-bontó, illetve ODC negatív változata volt. A minták 33%-át kitevő *P. multocida* ssp. *septica* törzsek mind a szorbit negatív 6-os biotípusba tartoztak. Az A buroktípusú törzsek előfordulása, a korábbi közel 90%-kal ellentétben, esetünkben átlagosan 63% volt. A D típusú törzsek jelenléte folyamatosan alacsony volt (12%), míg az F buroktípus előfordulási aránya a vártnál magasabb (26%). Két törzs hordozta a *toxA* gént, egy *multocida* és egy *septica* alfajhoz tartozó A buroktípusú izolátum, jelezve, hogy a toxikus törzsek számára lehetőség van a nyúl gazdában való megtelepedésre és kórokozó képességük manifesztálódására. (3 fő intézeti, 3 MFt)

Salmonella kutatások

Salmonella vakcina-jelölt törzsek reziduális virulencia tulajdonságait *in vitro* (sejtkultúrán) és *in vivo* vizsgálták, valamint \square naposcsibe modellen \square a törzs korai védelmet nyújtó képességét is tanulmányozták. A szülő törzshöz képest a mutánsok *in vitro* sejt-inváziós képessége jelentősen csökkent. Szintén csökkent *in vivo* körülmények között a mutánsok naposcsibe-szerv inváziós képessége, míg a vakbélben elért élő csíraszámok nem változtak jelentősen. A S. Enteritidis-11 törzs egyik virulencia-plazmid mentes, nem mozgó mutánsának a korai védekező képességet stimuláló hatását vizsgálva megállapították, hogy egyszeri alkalmazással a ráfertőző vad virulens törzs szerv inváziójával szemben a szülő törzshöz hasonló mértékű, jelentős, az élet első négy hetében jól érvényesülő korai védelmet nyújtott. Ugyanakkor a törzs szerológiai markere \square ELISA vizsgálatok alapján \square jól érvényesült. Valósidejű PCR-rel a korábban részletesen ismertetett, genetikailag és fenotípusosan jellemzett S. Hadar-18 törzs ún. 1-es pathogenitási szigetén (SPI-1) elhelyezkedő és azon kívül eső génekre irányított mutagenézissel előállított 11 különböző deléciós mutánssal (*$\Delta sipB$* , *$\Delta hilA$* , *Δlon* , *$\Delta rpos$* , etc.) *in vitro* (Vero és csirke-embrió fibroblaszt sejteken) interleukin (IL-8), valamint TNF α vizsgálatok sorát végezték el, inváziós vizsgálatokkal is kiegészítve. Az egyes gének kiütése a S.

Hadar-18 törzs virulenciáját lényegesen nem befolyásolta. Ez arra utalt, hogy a további vakcina fejlesztési célok érdekében a teljes virulencia szigeteket, nem pedig egyes géneket kell eliminálni. A *Salmonella* Typhimurium törzsek Európában széles körben elterjedt multirezisztens fág típusának (DT104) hazai előfordulásáról és jellemzéséről készült korábbi tanulmányukat újabb, friss állati és élelmiszer eredetű izolátumok molekuláris jellemzésével egészítették ki, melynek során az ilyen törzsek túlnyomó többségében a multirezisztenciáért felelős ún. 1-es *Salmonella* Genom Szigetet (SGI-1) mutatták ki, megállapítva, hogy ezek pulzotípusai □ elsősorban az állatfaji eredet szerint □ alcsoportokat képeznek. Húscsirke állományokban az újabban előtérbe került *S. infantis* törzsek antimikrobiális rezisztencia tulajdonságainak molekuláris járványtani jellemzésével □ az Országos Epidemiológiai Központtal együttműködésben □ megállapították, hogy hazánkban a húscsirke állományokban való fellépés után a humán megbetegedéseknél többszörös antibiotikum rezisztenciával (és ezt kísérő integron hordozással) jellemezhető törzsek kerültek előtérbe, többségük egységes klónt képezett (B2 pulzotípus) és egy nagy konjugatív plazmidot hordozott. (2 fő MTA, 1 fő pályázati támogatással; 5 MFT, EU-FP6: SUPASALVAC és MedVetNet).

Pathogen *Escherichia coli*

Választott sertések enterotoxikus *E. coli* (EPEC) fertőzése elleni, élő, orális, nem-GMO vakcina kísérletek keretében előállított bivalens (K88/F18) vakcina-jelölt törzsek ártalmatlanságát és védő hatását vizsgálták sertés-bélgacs kísérletekben. A fúziós plazmidot hordozó (nem-GMO) technikával eddig előállított vakcina jelölt törzsek a hozzájuk fűzött reményeket nem váltották be; oka a szükségesnél gyengébb *in vivo* gén-expresszió volt (egyébként megfelelő *in vitro* expresszió mellett). Viszont a korábbi (GMO) törzsek védőhatása □ különösen az F18 fimbriával szemben □ jól érvényesült. (1,5 fő, 5 MFT, Bio-03.)

Hazai szarvasmarha eredetű *E. coli* O157 EHEC (*stx*, *eae*) ill. EPEC (*eae*) törzsek genetikai egyezését négy háztartási génnel végzett MLST (Hohenheim-i Egyetemmel közös) vizsgálataikban ellenőrizve nagyfokú homogenitást tapasztaltak. A jellegzetes virulencia génekkel nem rendelkező □ atípusos □ *E. coli* O157 törzsek viszont az EHEC és EPEC törzsektől jelentős mértékben elkülönültek. Az EHEC O157 törzsek által hordozott *stx2* fágok tekintetében heterogenitást tapasztaltak: az Q933-es antiterminátor génnel rendelkező *stx2* fágok mindig indukálhatónak bizonyultak, míg a Q21-es antiterminátor génnel rendelkezők nem. Az atípusos O157 törzsekben a CDT-V toxint azonosították, amely nem jellemezte sem az EHEC sem az EPEC O157 törzseket. (1 fő MTA, 3,5 MFT, MedVetNet, OTKA)

Halkórtani és ökológiai vizsgálatok

Elsősorban a Balaton és vízrendszerében élő halak élősködőin végeztek vizsgálatokat, de összehasonlításként vizsgálták a leggyakoribb dunai halfajok parazitás fertőzöttségét is. A Balatonba befolyó patakok halfaunája és parazitás fertőzöttsége jelentős különbséget mutat a Balatonhoz közeli, és az attól távolabbi szakaszokon. A közeli szakaszokon a halfauna összetétele és azok fertőzöttsége gyakorlatilag megegyezik a Balatonra jellemzőkkel, míg a távolabbi szakaszokon tipikus folyóvízi hal és parazitafauna észlelhető. A balatoni monitoring vizsgálatok meglepő, új eredménye, hogy a rendkívül patogén *Ligula* fertőzöttség ismét megjelent, azonban a korábban dévérkeszegeket károsító bántalom ezúttal a Balatonba behurcolt folyami gébeket sújtotta. A hasüregben fejlődő nagyméretű férges az állomány 70%-át károsították. Nemzetközi együttműködésben, molekuláris módszerekkel tanulmányozták, hogy a korábban ismert *Ligula intestinalis* új gazdában való megjelenéséről van-e szó, vagy ismeretlen *Ligula* faj jelent meg ezen a biotópon. Egy új, jellegzetes tüneteket produkáló parazitózist, a kárászok szivárványhártyájában fejlődő *Dermocystidium* fertőzöttséget is leírtak le a gödöllői egyetem munkatársaival. (4 fő intézeti, 1,5 MFT, OTKA)

A tudományos szempontból legérdekesebb nyálkaspórák élősködők vizsgálata során a tárgyévben vörösszárnú keszeg, bodorka és kűsz *Myxobolus* fertőzöttségét tanulmányozták korszóvetteni és molekuláris módszerekkel. Vörösszárnú keszegben egy nagyon gyakori, a belső szerveket fertőző *Myxobolus* fajt találtak, mely molekuláris alapon jól elkülönült a kűszben hasonló lokációban előforduló fajtól. A két élősködőt új fajként írják le. Több jellegzetes lokációban fejlődő *Myxobolus* fajt is találtak, így egy-egy leírásra váró faj bodorkában és kűszben csupán a kopoltyúlemezek porcos ívében volt fellelhető. A két faj genetikailag jól elkülönült egymástól. Hasonlóan bodorkában több, azonos lokációban élő, morfológiailag azonosnak tűnő fajt lehetett megkülönböztetni 18S riboszomális DNS-ük alapján. Vizsgálatot kezdeményeztek a süllyő kopoltyúját tömegesen ellepő *Henneguya creplini* ciszták alternatív stádiumainak kimutatására a Balaton üledékében élő oligochaeta fajokból. (5 fő intézeti, 3 MFT, OTKA)

Magyar-Szír TÉT együttműködés keretében az általuk irányított szír aspiráns munkája első ízben mutatott ki actinospórákat tógazdaságokból a Közel-Keleten. Magyar-Portugál TÉT együttműködés keretében is az aktinospórák kimutatásában értek el eredményeket, de a mára nyálkaspórák

fertőzöttségét is feltérképezték, és több, izomzatot ill. kopoltyú-ívet fertőző fajt találtak (4 fő, 2 az Intézetből, TÉT, 1M Ft). Malajziában parazita-anyagot gyűjtöttek a Dél-Ázsiában tenyésztésbe fogott és természetes vizekben élő halfajokból, fertőzöttségüket kórszövettani és molekuláris módszerekkel tanulmányozták, és több új nyálkaspórási élősködő fajt írtak le. (UMT Grant) Amerikai együttműködésben folytatták a halélősködő kokciidium fajok molekuláris vizsgálatát, főleg azt vizsgálva, hogy a diffúz coccidiosis-t okozó, szigorúan specifikus fajokkal ellentétben a gócos és epicelluláris fajokra jellemző-e a fajilag távol álló gazdáknál való előfordulás (3 fő, 2M Ft, OTKA). A müncheni egyetemen funkcionális genomikai vizsgálatokat végeztek a pisztrángok kergekórját okozó *Myxobolus cerebralis* fajon. A gazdafelismerésben részt vevő parazita gének kifejeződését vizsgálták mesterségesen fertőzött szívárványos pisztráng ivadékokban. (1 fő, Humboldt Alapítvány) A MolCat Bt. biotechnológiai kutató kisvállalkozással konzorciumban tanulmányozták a parazita szervezetek vektorokból való kimutathatóságának lehetőségét, és ehhez a *Bothriocephalus* galandféreg ciklopsokban fejlődő stádiumait kísérletesen produkálták. Cél egy közvetlenül a halastó partján használható, új típusú DNS amplifikációs módszeren alapuló diagnosztikai eljárás kidolgozása. (4 fő intézeti, 9 M Ft, NKTH)

III. Hazai és nemzetközi kapcsolatok bemutatása

Felsőoktatási kapcsolatok

Egyetemi előadásokat tartottak, gyakorlatokat vezettek, állatorvos-, biológus és zoológus szakdolgozók kutatásait irányították (Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, ELTE TTK). Két diák TDK díjat is nyert (egyikük országos konferencián). Hét kutató vezetett doktoranduszokat (SZIE, ELTE, Kaposvári Egyetem). Tagjai a SZIE Doktori és Habilitációs Bizottságának és a SZIE Állatorvos-tud. Kar Doktori és Habilitációs Tanácsának. Új doktori iskolában törzstag-jelöltek (8 fő, +3 oktató): SZIE, Pannon, Kaposvári és Debreceni Egyetem.

Továbbképzést tartottak Szíriában (Tishreen University, Latakia; hal-parazitológiával foglalkozó PhD hallgató external supervisor-ként való témavezetése sikeres védelemmel) és hal-parazitológiai workshop keretében előadásokat Malajziában (Univ. Malaysia Terengganu). Ajánlatot kaptak az USA-beli KECK Graduate Institute of Applied Life Sciences intézettől, ahol molekuláris biológiai témákban PhD képzés folyik, hogy a *Mycoplasma* kutatásban és biológiai anyagok állatmodellekben való tesztelésére előadásorozatot indítsanak, és kutatómunkájában vegyenek részt. Szíriai TÉT kapcsolatban az Al-Baath Univ. Hama és a Tishreen Univ. Latakia kutatóival vizsgálták szíriai halak nyálkaspórási fertőzöttségét. A halkórtani együttműködésnek indult program kiegészült egy haltenyésztési alprojekttel, mely keretében magyar haltenyésztő szakemberek Szíriában megvalósuló közös halászati projekt előkészítésén dolgoznak. Magyar-portugál TÉT együttműködés keretében nyálkaspórási és coccidium fajokat mutattak ki portugál halakból és alternatív gazda-szervezetekből.

Jelentős együttműködések az alábbi intézményekkel folytak

CEVA-Phylaxia Rt; Debreceni Egyetem; Kaposvári Egyetem; Országos Állategészségügyi Intézet; Országos Epidemiológiai Központ; Országos Élelmiszervizsgáló Intézet; Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő; Pannon Egyetem Georgikon Kara, Keszthely; Pécsi Egyetem, Orvostudományi Kar; SZIE Állatorvos-tudományi Kar.

Külföldi intézmények: *Ausztria*: Vet. Univ., Bécs; *Belgium*: Univ. Liege; Vet. and Agrochemical Research Centre, Brüsszel; *Franciaország*: Univ. Toulouse; *Hollandia*: Center of Infectious Diseases of Animals, Lelystad; Univ. Leiden; *Japán*: Yamaguchi Univ.; *Malajzia*: Univ. Malaysia Terengganu, Institute of Tropical Aquaculture, Kuala Terengganu; *Nagy-Britannia*: AFRC Institute for Animal Health, Compton Laboratory; Health Protection Agency, Center for Infections, Colindale, London; MRC Virology Unit, Glasgow; Vet. Laboratories Agency, Weybridge; *Németország*: Univ. Hohenheim, Stuttgart; Univ. Munich; Univ. Würzburg; *Olaszország*: Central Public Health Institute (ISS), Roma; *Portugália*: Univ. Porto; *Spanyolország*: Univ. Madrid; *Svájc*: Institut für Viruskrankheiten und Immunoprophylaxe; Mittelhäusern; *Szíria*: Al-Baath Univ., Hama; *USA*: Avian Diseases and Oncology Laboratory, East Lansing, MI; Center for Fish Disease Research; Henry A. Wallace Beltsville Agricultural Research Center, MD; Univ. Delaware; Oregon State Univ.

Szerkesztőbizottsági tagságok: Acta Veterinaria Hungarica (főszerkesztője, 3 szerkesztő-bizottsági tag, intézeti adminisztrációs háttér), Magyar Állatorvosok Lapja, Diseases of Aquatic Organisms, Acta Protozoologica, Journal of Agricultural Science and Technology (Irán), Slovenian Veterinary Research, Systematic Parasitology, Praxis Veterina, Veterinarski Archiv, Veterinary Medicine (Csehország), Iranian Journal of Fisheries Sciences.

A Magyar Mikrobiológiai Társaság 4 vezetőségi tagja intézeti kutató. Szerepek MTA bizottságokba: Doktori Tanács, Akadémiai Kutatóhelyek Tanácsa, Élettudományi Kuratórium, Állatorvos-tud. Bizottság

(alelnök, Oltóanyag és Diagnosztikum, valamint Zoonózis albizottság: elnökök), Állatkísérleti Tud. Biz., Bolyai János Ösztöndíj Kuratórium Agrártudományi Szakkollégiuma (vezető). További bizottságokban: FVM Országos Állategészségügyi Tanács (alelnök); Oktatási Minisztérium Magyar Akkreditációs Biz. (Agrártudományi albiz.); OTKA Élettudományi Kollégium és Agrár 2 szakzsűri; Magyar Országos Állatorvos Egyesület Baromfi-egészségügyi Társaság, ANTSz Országos Infekciókontroll és Antibiotikum Rezisztencia Kontroll Biz., Magyar Élelmiszer-biztonsági Hivatal, Állategészségügy és Állatvédelem tud. szakbiz., MTA Rényi Alfréd Matematikai Kutatóintézet, Marie Curie Transfer of Knowledge grant Felügyelő Bizottsága.

Nemzetközi bizottságokban/szervezetekben végzett munka: Nemzetközi Vírusrendszertani Biz. (ICTV, Magyarország képviselője), ICTV Adenoviridae Munkacsoport (elnök); World Veterinary Poultry Association (tiszteltbeli elnök); GenBank Referencia Szekvenciák Részleg (társ-szaktanácsadó), EASAC (Európai Akadémiák Tudományos Tanácsadó Testülete) Antimikrobiális Rezisztencia Munkacsoport és Zoonózis Munkacsoport, ERA-NET PathoGenoMics (humán kórokozó mikroorganizmusok európai genomkutatásának koordinálása, segítése; a Program Network Irányító Tanács tagja és e Network of Excellence-ben Magyarország képviselője, vezetőségi ülés az Akadémia székházában), MedVetNet Network of Excellence (irányító testület és Koordináló Fórum tagság), WHO/FAO Codex Alimentarius Bizottság, Antimikrobiális Rezisztencia Magyar Munkacsoport (vezetés).

IV. Fontosabb elnyert hazai és nemzetközi pályázatok rövid értékelése

OTKA, TÉT és a négy futó EU FP6 program mellé újabb EU támogatást nyertek: SEE-ERANET (francia, szlovén és horvát kutatókkal pathogén *E. coli*/EHEC/ témában). INRA-MTA együttműködés indult verotoxikus *E. coli* (VTEC) törzsek molekuláris analízisére. A pályázatok hatékony kutatásokat, nemzetközi kapcsolatokat, felsőoktatási lehetőségeket és kutató-utánpótlás nevelést biztosítottak. A 60 MFt-os GAK pályázat az Intézet területén dolgozó biotechnológiai kutató kisvállalkozással jó alap további együttműködésekhez.

V. Az év folyamán megjelent jelentősebb publikációk, szabadalmak és más bemutatható eredmények

Jones MS, Harrach B, Ganac RD, Gozum MMA, dela Cruz WP, Riedel B, et al.: New adenovirus species found in patient presenting with gastroenteritis. *Journal of Virology* 81 (11), 5978-5984 (2007)

Molnár K, Marton Sz, Eszterbauer E, Székely Cs: Description of *Myxobolus gayerae* sp. n. and re-description of *M. leuciscini* infecting the European chub from the Hungarian stretch of the Danube River. *Diseases of Aquatic Organisms* 78 (2), 147-153 (2007)

Nagy B, Olasz F, Fekete Zs (2007) *Escherichia coli* strain for an oral vaccine against post-weaning diarrhea in pigs. United States Patent US 7,163,820 B1 (Jan. 16, 2007)