

MTA Doktori Értekezés tézisei

A brucellózis és a Q-láz járványtanának vizsgálata

Dr. Gyuranecz Miklós

Agrártudományi Kutatóközpont

Állatorvos-tudományi Intézet

Budapest, 2020

Bevezetés

Tudományi iránti érdeklődésem még egyetemi hallgatóként a vadegészségügy területén indult. TDK dolgozataimat vadmadarak himlővírus fertőzése és állatkerti madarak tüdőmikózisának témaköreiben készítettem. Állatorvosi diplomám kézhezvétele után a vadegészségügyi vonalon maradva a tularémiát választottam kutatási területemnek a SZIE Állatorvos-tudományi Kar Járványtani és Mikrobiológiai Tanszékén. PhD értekezésemet 2011-ben védtem meg „A tularémia ökológiájának vizsgálata és *Francisella tularensis* törzsek összehasonlító elemzése” című dolgozattal. Doktori kutatásaim során érdeklődésem egyre inkább a zoonótikus, állatot és embert egyaránt megbetegíteni képes, baktériumok felé fordult. 2012-ben sikerült elnyernem a Magyar Tudományos Akadémia fiatal kutatóknak kiírt, nagy presztizsű Lendület pályázatát, aminek segítségével saját kutatócsoportot alapíthattam az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézetében „Zoonótikus Bakteriológia és Mycoplasmatológia” névvel.

Folytattuk tularémia kutatásainkat, az állategészségügy területén a világ egyik vezető tularémia laboratóriumává, kutató műhelyévé váltunk. Ennek egyik elismerése volt, hogy 2015 és 2018 között laboratóriumunk a világ egyetlen OIE (World Organization for Animal Health) tularémia referencia laboratóriumaként is funkcionált. Vizsgálatainkat egyúttal kiterjesztettük a brucellózis, a Q-láz és a lépfene területeire is. Idővel azonban kutatásaink súlypontja egyre inkább a mycoplasmatológia irányába tolódott. A 2019-ben elnyert Élvtal pályázatomban is a *Mycoplasma* fajok vizsgálatát célozza. Jelenleg tizenöt fős csoportom kutatásainak 80%-a a mycoplasmatológia területét fedi le.

Véleményem szerint legjelentősebb tudományos eredményeim az utóbbi évek mycoplasmatológiai kutatásaiból származnak. Egy-egy vizsgálatot azonban csak egyszer illik új tudományos eredményként elszámolni, és mivel nem szeretném a PhD hallgatóim előtt „elvenni” a kutatási eredményeket, ezért korai post-doc időszakomban brucellózis és Q-láz területén végzett munkáimhoz nyúltam vissza az MTA doktori értekezés elkészítéséhez. Ezek jellemzően nem megtervezett kutatások voltak, hanem többségében az élet kínálta váratlan lehetőséget ragadtuk meg, és dolgoztuk fel kíváncsiságtól vezérelve tudományos szemszögből. A kezdeti csalódottságomat szerencsére kárpótolta a dolgozat megírása során érzett nosztalgia, az egykori élmények újra élése, amikor még gondtalan kutatóként időm zömét a terepen és a laborasztal mellett tölthettem, nem pedig a számítógép monitorja előtt görnyedve irányítottam egy nagy csoport mindennapi ügyeit.

Anyag és Módszer

A brucellózis vizsgálatának anyag és módszertana

Immunhisztokémiai (IHK) vizsgálatokat végeztünk *B. abortus* specifikus (S típusú *Brucella* fajok), *B. canis* specifikus (R típusú *Brucella* fajok) hiperimmun nyúl és *B. suis* specifikus (S típusú *Brucella* fajok) hiperimmun egér savó segítségével. Az utóbbi kettőt magunk állítottuk elő.

A klinikai mintákat (tampon, szövet, vér) *Brucella* szelektív vagy véres agarra oltottuk. A vérmintákból kazeinpepton-szójapepton tartalmú folyékony tápközegbe is inokuláltuk.

Standard módszerekkel vizsgáltuk a kitenyészett törzsek tenyésztési, morfológiai és biokémiai sajátosságait, úgy mint telepmorfológiáját, Gram-festődését, oxidáz-, kataláz- és ureáz aktivitását valamint CO₂- és H₂S-termelő képességét, illetve, hogy növekednek-e tionint és fukszint tartalmazó táptalajokon, 5% CO₂ jelenlétében vagy hiányában. Az API 20 NE teszt, a referencia savók és a BioLog rendszer segítségével is karakterizáltuk az izolátumokat. Meghatároztuk a *B. ovis* törzsek autoagglutinációs képességét.

A savó mintákat R- és S-teleptípusú *Brucella* fajokra specifikus tárgylemez agglutinációs próbával (RSAT), Rose-Bengal teszttel, csőagglutinációval, komplement kötési próbával (KK) és enzime-linked immunosorbet assay-vel (ELISA) vizsgáltuk.

A *Brucella* fajok kimutatására a különböző klinikai mintákból konvencionális és egy valós idejű PCR rendszereket használtunk. A „Bruce-ladder”, a „Suis-ladder” és pontmutációk vizsgálatán alapuló módszereket alkalmaztuk az izolált baktériumtörzsek azonosítására. A *B. ovis* törzsek vizsgálata során az *omp31* gén nagyobb darabjának az felsokszorozása céljából egy új PCR rendszert terveztünk.

Két féle MLVA rendszert használtunk a különböző *Brucella* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálatára. Az *B. canis* törzsek elemzésére a 15 variable-number tandem repeat (VNTR) régiót vizsgáló módszer általunk továbbfejlesztett változatát használtuk. A többi faj vizsgálata során egy 16 VNTR régiót elemző módszert és annak alpaneljeit vettük igénybe. A törzsek közötti evolúciós kapcsolatokat neighbor-joining módszerrel vizsgáltuk a MEGA6 program segítségével és a goeBURST algoritmus felhasználásával minimum spanning törzsfát készítettünk a Phyloviz programmal. A klasszikus PCR termékeken Sanger szekvenálást végeztünk és új generációs szekvenálási módszert (Ion Torrent) használtunk a *B. microti* izolátum genomjának bázis sorrend meghatározásához. A *B. ovis* törzs vizsgálata során sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel elektroforézist (SDS-PAGE) végeztünk.

A Q-láz vizsgálatának anyag és módszertana

Az IHK vizsgálat során a *C. burnetii* kimutatására nyúlban termelt hiperimmun savót alkalmaztunk.

Az állati eredetű vérminták szerológiai vizsgálata során KK próbát és ELISA vizsgálatot végeztünk. Az emberi savó mintákat mikro-immunofluoreszcencia teszttel (MIF) vizsgálatuk.

A minták szűrésére a genomban több kópiában jelen lévő *IS1111* gén szakaszt célzó TaqMan típusú valós idejű PCR rendszert használtuk.

A PCR pozitív minták genotipizálására két módszert alkalmaztunk. Az egyik egy 10 kitöltő régiót vizsgáló multi-spacer typing (MST), mely egy közepes felbontó képességű módszer, ami egymástól relatíve távoli rokonságban álló törzsek összehasonlítására, evolúciós kapcsolataik feltárására alkalmas. A másik alkalmazott genotipizáló módszer egy 6 lókuszon alapuló MLVA volt, ami egymással közeli rokonságban álló törzsek közötti finom genetikai kapcsolatok feltárását is lehetővé tevő rendszer, ami így kiválóan alkalmas akár járványtani nyomozás céljára is.

Kutatási eredmények bemutatása

A brucellózis járványtanának vizsgálata

Mezei nyúl (*Lepus europaeus*) brucellózisának vizsgálata

Három vadászati idény alatt 510 mezei nyulat (*Lepus europaeus*) vizsgáltunk meg Rose-Bengal próba segítségével, melyek közül 5 bizonyult szeropozitívnak. A kórbonctani vizsgálat során sárgás-fehér elhalásos gócot találtunk az állatok lépében, továbbá néhány esetben a tüdőben, a vesében, a méhben és a májban. A granulómák központját néhány heterofil granulocitát és bazofil törmelék tartalmazó eozinofil massa töltötte ki, melyet széles zónában hámsejtek határoltak, néhány heterofil granulocitával és Langhans típusú óriássejttel kiegészülve. Az ezt körülölelő zónát hámsejtek, nagy számban heterofil granulocita, közepes mennyiségben limfocita és néhány fibrocita határolta. Minden szeropozitív állatban kimutattunk immunfestődést az IHK vizsgálat során. Kevéstől közepes mennyiségben észleltünk *B. suis* antigént a gócot középső részét képező törmelékben és az extracelluláris izzadmányban. A *B. suis* szürkésfehér, 1 mm átmérőjű telepeit izoláltuk mind az 5 szeropozitív esetből 4 napos inkubálás után.

Korábbi külföldi kutatások során *B. suis*-szal fertőzött mezei nyulakban azt találták, hogy a makroszkópikus és mikroszkópikus gócot elsősorban az ivarszervekben és a májban fordulnak elő. Ehhez hasonló elváltozásokat a saját vizsgálataink során is tapasztaltunk, de a külföldi kutatásokkal ellentétben mi a lépben észleltük a legmarkánsabb elváltozást, hasonlóan a korábbi hazai vizsgálatokhoz. A kórszövettani vizsgálat során központi elhalt tartalommal rendelkező granulómákat találtunk, melyhez hasonló elváltozásokat több kórokozó is képes előidézni a mezei nyúlban, ezért további kiegészítő laboratóriumi vizsgálatokra van szükség a brucellózis megállapításához. Vizsgálataink során elsőként fejlesztettünk és használtunk IHK eljárást a mezei nyulak *B. suis* fertőzésének a kimutatására. Az IHK módszer érzékenysége és specificitása megegyezett a baktérium izolálásával.

Habár csak kis mintaszámon tudtuk a vizsgálatainkat elvégezni, ezek alapján úgy tűnik, hogy az IHK eljárás egy megfelelő diagnosztikai módszer a mezei nyulak *B. suis* okozta megbetegedésének a megállapítására.

Az *omp31* gén természetes gátlása IS711 beékelődés következtében *B. ovis*-ban

Egy *B. ovis* elleni szelekciós mentesítést hajtottunk végre egy 2400 anyajuhot és 93 kost számláló merinó juhászatban. A mentesítés folyamata 8 hónapig tartott, mialatt 42 szeropozitív kost szűrtünk ki, különítettünk el, majd vágunk le. A leölt kosok heréjéből és mellékheréjéből végzett tenyésztés során egy különleges tulajdonságokkal rendelkező *B. ovis* törzset (Bo10) izoláltunk. A Bo10-es izolátummal fertőzött kos a vizsgálatok során ELISA és PCR pozitívnak bizonyult. A kórbonctani, kórszövettani vizsgálat során krónikus, diffúz, gennyes mellékheregyulladását láttunk, a herében pedig tályogok és idült limfo-hisztocitózis gyulladást észleltünk. Az IHK vizsgálat során nagy mennyiségű *Brucella* antigént mutattunk ki. A Bo10-es törzs telepei 1 nappal később (4. napon) jelentek meg az izolálás során, mint a többi mintából kitenyésztett törzsek. Klasszikus biokémiai tulajdonságai megegyeztek a többi törzsével, de a Bo10-es izolátum nagyon gyengén agglutinált R savóval, a Biolog rendszer *B. suis*-ként azonosította és erős autoagglutinációs képességgel rendelkezett. A Bo10-es törzs a „Bruce-ladder” multiplex PCR során az *omp31* gént célzó PCR-ben a *B. ovis*-ra jellemző 1071 bp nagyságú termék helyett egy közel 1915 bp nagyságú terméket adott, amiről szekvenálás után kiderült, hogy magába foglalt egy 842 bp hosszú inzerciót, az IS711-et. Az IS711 intergenikusan ékelődött be, pont az *omp31* gén promotor régiójába, közvetlenül a riboszóma kötő hely elé (-10 boks/Pribnow box) és 388 nuklotidnyira a BOV A0367 lókusztól. Az SDS-PAGE során a Bo10-es törzsben hiányzott az Omp31 fehérje méretének megfelelő 31 kDa méretű termék, míg a többi *B. ovis* izolátumban jelen volt.

A vizsgálat során elsőként állapítottuk meg az IS711 egy eddig ismeretlen elhelyezkedését a *B. ovis* genomjában. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy az IS711 *B. ovis*-ban egy helyváltoztatásra képes aktív transpozon. A Bo10-es törzs lassabb növekedési képessége, autoagglutinációs tulajdonsága, az IS711 genombeli elhelyezkedése és a jellemző 31 kDa nagyságú fehérje hiánya alapján megalapozottan feltételezhetjük, hogy az *omp31* gén természetes inaktivációját észleltük *B. ovis*-ban.

Összefoglalva egy természetes körülmények között kialakult, IS711 beékelődés által előidézett *omp31* gén inaktivációt volt szerencsénk felfedezni egy virulens *B. ovis* törzsben.

B. canis fertőzés első hazai megállapítása

Egy magyarországi, 31 kutyát számláló tenyészet tulajdonosa 8 hónapon át jelentkező szórványos szaporodásbiológiai zavarokat és vetéléseket követően intézeti diagnosztikai vizsgálatra küldött egy vetélt magzatot és magzatburkot, amiből *B. canis*-t tenyésztettük ki. A magzatburok kórszövettani vizsgálata során elhalásos gyulladást, az IHK vizsgálattal pedig a trofoblast sejtekben nagy mennyiségben *B. canis*-t figyeltünk meg. A 31 kutya közül 7 állat (23%) bizonyult szeropozitívnak a RSAT próbában, míg a vér-, hüvely- és toroktampon minták bakteriológiai vizsgálata során 3 állatból (10%) sikerült a *B. canis*-t kitenyésztetni. Hat elaltatásra került állat mindegyikében kórszövettani elváltozások voltak megfigyelhetők, míg az IHK és közvetlen PCR vizsgálatok csak egy-egy esetben adtak pozitív eredményt.

Vizsgálatainkhoz hasonlóan hosszú ideig fennálló szaporodásbiológiai tünetekről számoltak be külföldi szerzők is *B. canis* járvány esetén. Kutatásunk során a vizsgált kutyák közül legnagyobb arányban a RSAT mutatott pozitív eredményt. Az esetek 4/7 (57%)-ában szubklinikai fertőzést állapítottunk meg, amely eredmény hasonló a szakirodalomban leírtakkal. Esetünkben a szeropozitív egyedek aránya (23%) alacsonyabb volt, mint egy hasonló külföldi vizsgálat során. A szerológiai státusz két esetet kivéve mindegyik kutyánál változott az idő folyamán. A szerológiailag pozitív állatoknak kevesebb mint a fele volt pozitív a baktérium tenyésztés során, aminek az oka az intermittáló bakterémia. Korábbi vizsgálatokhoz hasonlóan mi is úgy találtuk, hogy a biokémiai vizsgálatok és a szénforrás hasznosítás vizsgálat önmagában nem alkalmasak a *B. canis* és *B. suis* elkülönítésére. A növekedési tulajdonságok alapján egyedül a telepmorfológia volt önmagában is alkalmas a két faj differenciálására. Még a kifinomultabb molekuláris biológiai módszerek, mit például a „Bruce-ladder” módszer is elbukott a faj meghatározásában, amelynek a közeli rokonság a magyarázata. Az egyértelmű azonosításhoz végül az 5 pontmutáció kimutatásán alapuló molekuláris biológiai módszer bizonyult megfelelőnek. Az esetek többségében a baktérium direkt kimutatása PCR reakcióval sikertelen volt. Ezen eredmények figyelembevételével egy új PCR eljárás kidolgozása, vagy más szervminták vizsgálata megfontolandó. A kutyákban és a magzatburkokon talált szövettani elváltozások, valamint az IHK eredmények a korábbi cikkekben leírtakhoz hasonlóak voltak. Összefoglalva a járványtani körülmények és a modern diagnosztikai vizsgálatok alkalmazásával hazánkban először állapítottuk meg *B. canis* okozta vetélést egy kutyatenyészetben. Számos módszer (szerológia, vérminták és nemi váladékok bakteriológiai vizsgálata) egyidejű és ismétlődő alkalmazása szükséges az élő egyedek fertőzöttségének a megállapításához.

A *B. canis* gazdafajon belüli evolúciója a járvány során

A *B. canis* járvány során 8 törzset izoláltunk a kutya tenyészet különböző kutyáiból. A 15 vizsgált VNTR lókuszt közül 10 nem mutatott különbséget a vizsgált törzsek között. A VNTR3 7 izolátum esetében megegyezett, míg egy izolátum esetében nem volt jelen (0 allélt adott), így ezt azt allélt monomorfának tekintettük a vizsgálatunk során. A VNTR1 és a VNTR30 egy ismétlődő egységnyi inzerciót tartalmazott az egyik izolátum (C6) esetében. A VNTR2 és VNTR33-as markerek nagy változatosságot mutattak a nyolc izolátumban. Alternatív allélok jelenlétét is kimutattuk a VNTR1, 2 és 33 esetében. Tíz eset közül nyolcban olyan alternatív allélt észleltünk, ami egy másik izolátumban elsődleges allélként szerepelt. Ha az elsődleges és másodlagos allélokat egyaránt bevontuk az elemzésbe, akkor jelentős genetikai hasonlóságot/átfedéseket mutattunk ki az egyes törzsek között. Az alternatív allélok szerepének a megjelenítésére a körökből és vonalakból álló törzsfák helyett alkalmasabbnak találtuk felhő-szerű ábrázolást. A nyolc izolátum a filogenetikai vizsgálat során három ágra tagolódott. A nyolc izolátum közül hat egyedi genotípussal rendelkezett. Ugyanabból a kutyából, de különböző időpontban vagy szervből izolált törzsek egymástól elkülönülve helyezkedtek el a törzsfán.

Az MLVA segítségével genetikai különbségeket tudtunk kimutatni más módszerekkel egyébként megkülönböztethetetlen izolátumok között, melyek különböző egyedekből, vagy ugyanazon állat különböző szerveiből származtak. Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy a különböző egyedekből izolált *B. canis* törzsek közös őstől származnak, ami nem sokkal korábban kerülhetett be az állományba, majd gyors *in vivo* genetikai változásokon ment keresztül. A C1 törzs a vizsgált szuka kutya magzatából lett izolálva júniusban. Ez a törzs közeli rokonságban áll a C2 és 3 törzsekkel, melyek a nőstény kutya véréből és hüvelyéből izoláltunk júliusban. Ehhez hasonlóan *in vivo* evolúció mutatható ki a kan kutyából júliusban és augusztusban izolált C4 és C5 törzsek között. Ugyancsak *in vivo* mutációt észleltünk a kölyök kutyából kitenyésztett C6, 7 és 8 izolátumok között. Különösen fontos része volt a munkánknak az alternatív allélok vizsgálata, melyek aztán elsődleges alléllá lépnek elő más törzsekben és ezzel mutatják a genetikai változás folyamatát az MLVA vizsgálat során.

Ez az első olyan vizsgálat, mely finom felbontó képességű genetikai vizsgáló módszerrel feltárta egy *B. canis* járványból származó törzsek rokoni kapcsolatait. Kimutattuk, hogy több VNTR lókuszt gyorsan mutálódik a *B. canis*-ban és alternatív allélok jelenhetnek meg. Igazoltuk, hogy a *B. canis* akár igen rövid időintervallumon belül is képes genetikailag változni a gazdaszervezetben.

***B. microti* első izolálása vaddisznóból (*Sus scrofa*)**

Egy Rajka melletti vadászat során elejtett vaddisznó áll alatti nyirokcsomójából *B. microti* törzset izoláltunk. A nyirokcsomó kórbonctani, kórszövettani és IHK vizsgálata során nem tudtuk kórtani elváltozást kimutatni. A nyirokcsomóból közvetlenül *Brucella* szelektív agarra történt kioltás negatív eredménnyel zárult, de a *Brucella* szelektív táplevesben történt elődúsítás után sikerrel izoláltuk a kórokozót. A kezdetben átlátszó, tűszúrásnyi, krémes állagú telepek barna színeződést mutattak 3 napos inkubálás után. A kitenyésztett baktérium Gram-negatív, Köster-pozitív, kokkoid-pálca volt, kataláz, oxidáz és ureáz aktivitást mutatott, de H₂S-t nem termelt. Növekedett 20 µg/ml tionin és bázikus fuxin jelenlétében és CO₂-t nem igényelt a szaporodásához. Erősen agglutinált A és M savókkal, de R savóval nem reagált. Az API 20 NE teszt *Ochrobactrum anthropi*-ként azonosította 99,9%-os valószínűséggel. A kitenyésztett törzset *B. microti*-ként (HUN-Bmi-01) azonosítottuk a továbbfejlesztett „Bruce- és Suis-ladder” módszerekkel. Meghatároztuk a törzs inkomplett teljes genom szekvenciáját, melyet SRP053188 azonosítószámon elhelyeztünk a GénBankban. Összehasonlítottuk a kapott genom szekvenciát a GénBankban található *B. microti* referencia genom szekvenciával és 19 nuklotid eltérést azonosítottunk az 1-es és 11-et a 2-es kromoszómán a két törzs között. Az MLVA16 vizsgálat során egy új, eddig nem ismert *B. microti* profilt azonosítottunk.

Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy a *B. microti* endemikus Közép-Európában. Feltételezésünk szerint a vaddisznó egy rágcsáló vagy állati tetem (pl. pocok, róka) elfogyasztása során, vagy egyszerűen csak a földet túrva fertőződhetett a törzssel. Elképzelhetőnek tartjuk, hogy a vaddisznó egyfajta rezervoár szerepet is betölthet, ami képes a környezetben fenntartani és terjeszteni a *B. microti*-t. A telepmorfológiai, növekedési és biokémiai tulajdonságai a kitenyésztett törzsnek, beleértve az izolálás 3. napján megjelenő barnás színű pigmentációt megegyeztek a külföldi szerzők által az első *B. microti* törzsről leírt tulajdonságokkal. Az agglutinációs profilja azonban egyedi volt. A cseh mezei pocok eredetű és a hazai vaddisznóból származó *B. microti* törzsek inkomplett teljes genom szekvenciájának az összehasonlítása során felfedezett csupán 30 pontmutáció meglepően kevés, ami arra enged következtetni, hogy igen nagy lehet a *B. microti* törzsek között a genetikai hasonlóság Közép-Európában. A nagy mutációs rátával rendelkező VNTR lókuszokra fókuszáló MLVA vizsgálat során azonban a vaddisznóból kitenyésztett törzs jól elkülönült a környező országokból származó mezei pocok, róka és talaj eredetű izolátumoktól.

Eredményeinket összefoglalva elmondhatjuk, hogy elsőként mutattuk ki a *B. microti*-t vaddisznóból és elsőként izoláltuk Magyarország területéről.

Sertés, vaddisznó és mezei nyúl eredetű *B. suis* 2-es biotípusú törzsek összehasonlító genetikai vizsgálata

A 68 magyarországi törzs MLVA16 vizsgálata során 55 genotípust különítettünk el, melyek közül 45-öt csak 1-1 izolátum képviselt, míg a maradék 23 törzs 10 db 2-3 fős csoportba sorolódott. A 203 vizsgált európai *B. suis* 2-es biotípusú törzs között 167 genotípust különböztettünk meg. Az MLVA vizsgálat eredményei alapján a hazai *B. suis* 2-es biotípus populáció rendkívül heterogén. Összesen kilenc MLVA8 és tizennégy MLVA11 genotípust azonosítottunk, melyek közül öt MLVA8 (108, 109, 118, 119 és 120) és kilenc MLVA11 (213-221) új genotípusnak bizonyult.

A hazai mezei nyúl és vaddisznó eredetű törzsek két, genetikailag élesen elkülönült csoportot alkottak. A hazai vaddisznó eredetű törzsek esetében nem találtunk összefüggést a genotípus és a hazai törzsek országon belüli eredete között. Ugyanabba a genotípusba tartozó törzset kimutattunk az ország nyugati és keleti részéből egyaránt, de azonos földrajzi eredetű törzsek között több, különböző genotípust is megfigyeltünk. Az egyes hazai törzsek izolálásának ideje és genotípusa között nem találtunk összefüggést. A különböző európai mezei nyúl eredetű törzsek (Franciaország, Lengyelország, Magyarország, Németország, Svájc) egymáshoz közel helyezkedtek el az MLVA11 törzsfán, de ezen a nagyobb csoporton belül nem találtunk további csoportosulást a törzsek között a földrajzi eredetük alapján. Ezzel szemben az európai szinten a vaddisznó eredetű törzsek genotípusa többnyire földrajzi lokalizációt mutatott. Az Ibériai-félszigetről származó valamennyi vaddisznó és házi sertés eredetű törzs egy csoportba sorolódott. A német vaddisznókból és sertésekből kitenyészett izolátumok változatos genotípusokkal rendelkeztek és többnyire a magyar vaddisznó és sertés eredetű törzsekkel mutattak rokonságot. Az európai és hazai izolátumok MLVA16 vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy egy horvát sertés és egy magyar vaddisznó eredetű izolátum genotípusa megegyezik. Ez az eredmény egyrészt megerősíti a fertőzés terjedését a vaddisznó és házi sertés állományok között, másrészt utal a kórokozó határokon átívelő terjedésére az állatok vándorlása vagy áttelepítése révén.

Egyes *B. suis* 2-es biotípusú törzsek sokkal inkább a mezei nyulakhoz, mind a vaddisznókhöz adaptálódtak. Az európai vaddisznó eredetű törzsek elsősorban földrajzi eredetük alapján csoportosultak a törzsfán. A sertés eredetűek nem alkottak különálló csoportot, hanem egyes izolátumok a vaddisznó, míg mások a mezei nyúl eredetű törzsekkel mutattak rokonságot. Ezek az eredmények alátámasztják azokat a korábbi feltételezéseket, hogy mind a vaddisznó, mind a mezei nyúl populációk a szabadon tartott sertés állományok fertőzési forrásai lehetnek.

Teve eredetű *B. melitensis* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálata

Az MLVA8 vizsgálat alapján az Egyesült Arab Emírátsokból származó 15 vizsgált *B. melitensis* törzs 5 különböző genotípusba sorolódott, melyek közül kettő új típusnak bizonyult. Az MLVA11 és 16 vizsgálat során további alcsoportokat határoztunk meg, az előbbivel hét, az utóbbival tíz genotípust különítettünk el. Az Egyesült Arab Emírátsokból származó törzsek két fő genetikai kládba, a kelet-mediterrán és az afrikai kládba sorolódtak. Az emírátsi teve eredetű törzsek a helyi vad és házi kérődzőkből származó izolátumokkal vagy akár a világ más részeiről származó törzsekkel mutattak genetikai rokonságot. Ugyan limitált számú (11) tevéből származó izolátumot vizsgáltunk, azok a tevék földrajzi eredete vagy a mintavétel dátuma szerint kisebb genetikai csoportokat alkottak.

Eredményeink alapján feltételezzük, hogy négy különböző forrásból érkezett *B. melitensis* törzs a vizsgált telepre és ezek közül kettő új MLVA8 genotípusnak bizonyult. Az első két esetben a Szaúd-Arábiából és Szudánból importált tevékkel került be a fertőzés az állományba. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy az afrikai/szudáni élő állat import hozzájárulhatott az afrikai kládba tartozó *B. melitensis* törzsek megjelenéséhez az Egyesült Arab Emírátsokban. Mindkét esetben sikeresen mentesítették az állományt. Az utóbbi két fertőződés forrása nem teljesen tisztázott, de feltételezhető, hogy az Egyesült Arab Emírátsokban széles körben elterjedt élőlény (kiskérődző, vadállat) lehet a kórokozó rezervoárja. A telep körbekerített és szigorú járványvédelmi intézkedésekkel rendelkezik. Időnként azonban vadállatokat (pl.: gazellákat) lehet látni a telep közelében, a kerítésen kívül, amik esetleg a brucellózis fertőzési forrásai lehetnek. Ezt a feltételezést támasztja alá, hogy ugyanezt *B. melitensis* genotípust sikerült kimutatni Dubai távolabbi részeiből származó kecske és tejelő szarvasmarha mintákból is.

Összefoglalva az MLVA segítségével sikeresen feltártuk az egyes teve eredetű *B. melitensis* törzsek közötti genetikai rokonságot és eredményeink hozzájárulhatnak a kórokozó elleni sikeres védekezéshez az Egyesült Arab Emírátsokban.

A Q-láz járványtanának vizsgálata

A *C. burnetii* prevalenciája Magyarországon: tejelő szarvasmarha állományok, juhászatok, kereskedelmi forgalomban kapható tejek és kullancsok felmérő vizsgálata

A tejelő szarvasmarha állományokban átlagosan 19,33%-os egyed szintű szeropozitivitást észleltünk a KK vizsgálatok során. Az esetek többségében (15,7%) alacsony (1:10-1:40), míg kisebb hányadában (3,7%) magasabb ($\leq 1/80$) titer értékeket tapasztaltunk. A vizsgált juh állományokban KK vizsgálattal nem tudtunk szeropozitivitást kimutatni. Az ELISA vizsgálatok során a szarvasmarha és juh állományokban 38,0%-os és 6,0%-os egyedi szeropozitivitást és 100,0%-os és 60,0%-os állomány szintű pozitivitást detektáltunk. A tej minták valós idejű PCR vizsgálata során 8,7% (Ct 24,2-36,8) *C. burnetii* ürítést mutattunk ki szarvasmarhában és 4,0%-ot (Ct 34,5-35,1) juhban. A tanktej minták vizsgálata során a tejelő szarvasmarha állományok 66,7%-a (Ct 32,6-36,8) bizonyult Q-láz pozitívnak. A *C. burnetii* DNS-ét a vizsgált 9 kereskedelmi forgalomban kapható pasztörizált tej közül 8-ból sikerült kimutatnunk (Ct 27,7-34,8). Az 5402 kullancs *C. burnetii* specifikus valós idejű PCR vizsgálata negatív eredménnyel zárult.

Eredményeink ugyanakkor alátámasztják a korábbi megfigyeléseket, miszerint a KK próba érzékenysége elmarad az ELISA vizsgálatétól. A KK próba előnye azonban, hogy a titer értékek alapján könnyen elkülöníthető egymástól a heveny és a krónikus fertőzés. A tejelő szarvasmarha állományokban tapasztal egyedi és állomány szintű szeroprevalencia értékek meghaladták a nemzetközi átlagot (20,0% és 37,7%). Ennek egyik magyarázata az lehet, hogy a korábbi felmérő vizsgálatokat még akkor végezték, amikor csak kevésbé érzékeny diagnosztikai módszerek (Pl: KK próba) álltak rendelkezésre. Ezt a feltételezést támasztja alá a tanktej minták PCR vizsgálati eredménye, mely során hasonló állományszintű prevalencia értéket kaptunk, mint más kutatók. A *C. burnetii* hazai juh állományokban tapasztalt állomány szintű előfordulása szintén meghaladta a nemzetközi átlagot (25,0%), míg az egyedi szintű prevalencia elmaradt a különböző országokból jelentett értékektől (15,0%). Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy a kullancsok Hollandiához hasonlóan nem játszanak fontos szerepet a Q-láz hazai járványtanában.

Az adekvát prevalencia adatok elengedhetetlenek a megfelelő járványvédelmi intézkedések meghozatalához, ezért vizsgálatunk során Magyarországra vonatkozóan igyekeztünk alapvető prevalencia adatokat szolgáltatni a *C. burnetii* fertőzöttség elterjedésére vonatkozóan.

Hazai állati és emberi eredetű *C. burnetii* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálata

Hat szarvasmarha és öt juh minta MST vizsgálata során egy új (ST37) és két korábban leírt (ST20, ST28) szekvencia típus (ST) előfordulását mutattuk ki Magyarországon. A tizenegy juh és szarvasmarha minta MLVA vizsgálata során öt genotípust különítettünk el, melyek közül kettő új típusnak bizonyult. A szarvasmarha minták három MLVA típusba (I, J, M) sorolódtak, míg a juh minták adták a két új genotípust (AF és AG). Az emberi mintának a relatív magas DNS koncentráció (Ct 28,31) ellenére is csak részlegesen sikerült elvégezni a genotipizálását. MLVA típusuktól függetlenül valamennyi szarvasmarha eredetű minta 20-as szekvencia típusú *C. burnetii* törzset tartalmazott. A juh eredetű törzsek két MST típusba sorolódtak. A 28-as szekvencia típust adták az AG MLVA profilú törzsek, míg az újonnan javasolt 37-es szekvencia típusba az AF MLVA profilú törzsek sorolódtak. Tehát összefüggést találtunk a törzsek gazdafaji eredete és genotípusa között.

Az ST20-as genotípus széleskörű elterjedtségét tapasztaltuk világszerte, kimutatták szarvasmarha tejből, kecske méhlepényből, humán diagnosztikai mintából és talaj mintákból. Az ST20-as genetikai mikrovariánsait is kimutatták a Föld különböző részeiről. Az I, J és M MLVA genotípusokat azonosították szarvasmarha tejben és tejtermékekben Európa és a világ különböző országaiban. Következtetésként elmondhatjuk, hogy ugyan a 20-as szekvencia típusú *C. burnetii* törzset elsősorban szarvasmarha eredetű mintákból mutatták ki, időnként más gazdafajban is azonosították. A 28-as szekvencia típusú törzseket korábban juh, szarvasmarha, *Hyalomma* sp. kullancsból és emberi vérmintákból mutatták ki Kazahsztánban. Az ST37 az ST8, ST9, ST10, ST27, ST28 és ST31 genotípusokkal mutat közeli rokonságot, melyek jelenlétét emberekben, juhokban és kecskében mutatták ki a világ számos pontján. A vizsgálataink során újonnan leírt AG és AF genotípusok közeli rokonságot mutatnak a szintén Európában juh, kecske és emberi mintákból leírt AA és T variánsokkal. Sem az MST, sem az MLVA vizsgálat során nem tudtunk genetikai rokonságot kimutatni a hazai *C. burnetii* törzsek és a 2007-es hollandiai járványt okozó izolátumok (ST33) között.

Eredményeink alap adatokat szolgáltatnak a magyarországi *C. burnetii* populáció genetikai sokszínűségéről. A megvizsgált 12 hazai szarvasmarha, juh és emberi eredetű törzs 3 MST (közülük 1 új) és 5 MLVA (közülük 2 új) genotípusba sorolódott. Összefüggést találtunk a törzsek gazdafaji eredete és genotípusa között, ami megerősíti más kutatók gazdafaj adaptációs evolúciós hipotézisét. Eredményeink hozzájárulnak az európai *C. burnetii* monitoringhoz is.

Új *C. burnetii* genotípusok kimutatása etiópai kullancsokból

Összesen 296 kullancsot (*Amblyomma variegatum*, n=118; *A. cohaerens*, n=100; *A. lepidum*, n=2; *Rhipicephalus decoloratus*, n=50; *R. evertsi*, n=17; *R. praetextatus*, n=8 and *Hyalomma rufipes*, n=1) gyűjtöttünk össze 18 különböző zebu csordába tartozó 109 szarvasmarháról délnyugat Etiópiában. A *C. burnetii* specifikus valós idejű PCR vizsgálat során 32 pozitív kullancsot azonosítottunk, melyek közül 8 (*Amblyomma cohaerens*, n=6; *A. variegatum*, n=2) tartalmazott elegendő DNS-t (Ct<35) a további genetikai vizsgálatokhoz. Az MST analízis során egy új szekvencia típust (ST52) azonosítottunk a vizsgált kullancs mintákban. Az MLVA módszer segítségével két új genotípust írtunk le. A 24-es genotípust a *Coxiella* MLVA adatbázis nomenklatúrája alapján vagy a korábbi publikációk nevezéktana alapján AH genotípust mutattuk ki mindkét vizsgált *Amblyomma* kullancs fajban, a 26-os vagy AI genotípust az *A. cohaerens*-ben.

Az általunk újonnan azonosított ST52-es genotípus közeli rokonságot mutat a világszerte elterjedt 20-as szekvencia típussal, mely leggyakrabban szarvasmarhákban fordul elő, de leírták már más állatfajokból is. Az ST52 ugyancsak rokonságot mutatott az ST19-cel, melyet korábban egy emberi mintából mutattak ki Szenegálban. Az MLVA vizsgálat során az 52-es szekvencia típust további két variánsra (24/AH és 26/AI) bontottuk. Ez a két újonnan leírt MLVA genotípus szintén szarvasmarhából leírt *C. burnetii* típusokkal mutatott rokonságot. Például a 24/AH variáns a 25/L típustól, melyet egy szlovák tej mintában azonosítottak, csupán az Ms24-es lókuszon különbözött egy ismétlődő régióban (12 helyett 13 kópia). Mindkét genotipizáló vizsgálat során azt találtuk, hogy az általunk leírt genotípusok, más, a világ különböző részeiről kimutatott szarvasmarha eredetű genotípusokkal mutatnak közeli rokonságot. Ez egybevágh azzal, hogy az általunk vizsgált kullancsokat zebu szarvasmarhákról gyűjtöttük. Kutatásunk megerősíti a korábbi eredményeket, miszerint az egyes *C. burnetii* genotípusok erős gazdafaj adaptációval rendelkeznek.

Vizsgálataink során genetikai információval szolgáltunk a kevésbé vizsgált afrikai *C. burnetii* populációról. Az etióp szarvasmarhákról gyűjtött 8 kullancs mintában található *C. burnetii* törzseket egy újonnan leírt MST (ST52) és két, új MLVA (24/AH és 26/AI) genotípusba soroltuk. Valamint újabb bizonyítékkal szolgáltunk az egyes *C. burnetii* variánsok erőteljes gazdafaj adaptációjáról.

Egy hazai Q-láz járvány ismertetése

A járvány gócpontja egy körülbelül 10 km²-es terület volt a Baranya megyei Vókány (851 fő) és Kistótfalu (321 fő) települések területén. Április 17. és július 31. között 176 fertőzés gyanús, magas lázzal, légzőszervi tünetekkel, fejfájással és mellkasi fájdalommal járó emberi megbetegedést regisztráltak. Száztizenhét emberből sikerült savópár mintákat venni és 70 esetben (60%) állapítottunk meg igazolt Q-láz fertőzést. A valós idejű PCR vizsgálat során a 26 alvadásban gátolt vérminta közül háromból, míg az 51 savó minta közül 17-ből tudtuk a kórokozót kimutatni (Ct 29,4-36,1) 1-3 héttel a klinikai tünetek megjelenését követően. A vókányi juhászatból gyűjtött savó minták 23,2%-a (13/56) és 44,6%-a (25/56) bizonyult pozitívnak a KK és ELISA vizsgálatok során. A valós idejű PCR vizsgálat alkalmával a 20 egyedi tej minta közül 4-ből tudtuk kimutatni a kórokozót (Ct 30,1-33,5), míg a trágya minták kétharmada (41/65, Ct 28,9-36,82) bizonyult pozitívnak. Az MST vizsgálat során egy humán mintából és a juhászatból gyűjtött két trágya mintából egyaránt ST18-as *C. burnetii* genotípust sikerült kimutatnunk. A minták MLVA mintázata szintén majdnem megegyezett; 4/5-9-3-3-0-5 (Ms23-Ms24-Ms27-Ms28-Ms33-Ms34).

A szerológiai és valós idejű PCR vizsgálatok segítségével sikerült néhány nap alatt pontos diagnózist adnunk az első betegekkel kapcsolatban, ami lehetővé tette a további fertőzés gyanús emberek célzott vizsgálatát és terápiáját. A két módszer kombinált alkalmazása szintén megfelelőnek bizonyult a helyes diagnózis felállításához a fertőzés korai, első két hetes stádiumában. A járvány forrásaként a vókányi juhászatot azonosítottuk. Érdekes módon a juhász nem tapasztalt a szokásosnál nagyobb számú szaporodás biológiai problémát a januártól ápriliséig tartó elli időszak alatt. A vizsgálat során megállapított 44,6%-os szeropozitivitás viszont sokkal magasabb volt, mint a korábbi felmérő vizsgálat során a juhászokban tapasztalt 6,0%-os prevalencia, ami egyértelműen járványra utalt. A fertőzés okozója egy 18-as szekvencia típusú, hazánkban újonnan megjelent *C. burnetii* törzs volt. A genetikai vizsgálataink során szintén igazolást nyert, hogy az Baranya megyei emberi Q-lázás megbetegedések forrása a vókányi juhászat volt. Feltételezésünk szerint a *C. burnetii*-t tartalmazó méhváladékkal szennyezett és beszáradt trágyát a szél fújhatta el a telepről a települések irányába. A juhászatban járványvédelmi intézkedéseket vezettek be és a helyszínt fertőtlenítették. Ezt követően újabb akut emberi Q-lázás megbetegedést nem regisztráltak és az egy évvel későbbi ellenőrző vizsgálat során sem tudtuk már a kórokozót (ST18) kimutatni.

A munka során a Baranya megyében lezajlott Q-láz járvány járványtani, intézeti diagnosztikai és molekuláris epidemiológia vizsgálatait foglaltuk össze tudományos igényességgel.

A *C. burnetii* kimutatása házi és vadon élő kérődzők egészséges és vetélt magzatburok mintáiból Magyarországon

A kutatás során méhpogácsa mintákat gyűjtöttünk 111 házi kérődző (85 szarvasmarha, 21 juh, 5 kecske) vetélt magzatburkából és 91, vadászatok során elejtett vad kérődző (33 őz /*Capreolus capreolus*/, 22 dāmivad /*Dama dama*/, 36 gímszarvas /*Cervus elaphus*/) egészséges magzatburkából. A szarvasmarha magzatburok minták 26%-ból (22/85) tudtunk valós idejű PCR-rel *C. burnetii* DNS-t kimutatni. A vizsgálat esetek 3,5%-ban (3/85) tudtunk magas DNS tartalmat azonosítani (Ct 14,12-17,06), de magzatburok gyulladását nem tapasztaltunk, és a fertőzést IHK-val sem tudtuk megerősíteni. A *C. burnetii* DNS-ét a juh vetélés minták 47,6%-ból (10/21) sikerült kimutatnunk. Az összes PCR pozitív mintában méhgyulladását is diagnosztizáltunk a kórszövetteni vizsgálat során. Három PCR pozitív esetben (Ct 8,51-13,07) kórszövetteni és IHK vizsgálattal is megerősítettük a fertőzést, így feltételezésünk szerint a *C. burnetii* oktani szerepet játszott a vetélés kialakulásában. Csak öt kecske magzatburok mintát volt lehetőségünk megvizsgálni, és közülük csak az egyikből tudtuk kimutatni a *C. burnetii* jelenlétét (Ct 35,3). A vad kérődző minták közül két gímszarvasból származó méhpogácsa mintából sikerült a *C. burnetii*-t kimutatni a PCR vizsgálat során (5,55%, 2/36, Ct 34,73 és 35,98).

Vizsgálatunk során tapasztalt magas Ct értékek (22,3%, 19/85) és az antigén kimutatás hiánya arra enged következtetni, hogy a *C. burnetii* csak szubklinikai megbetegedést okoz szarvasmarhában, és a külföldi tapasztalatokhoz hasonlóan Magyarországon sem tekinthető jelentős vetélést okozó kórokozónak. Vizsgáltunk során IHK-val megállapított *C. burnetii* okozta juh vetélések száma (14,3%, 3/21), illetve egy korábbi hazai vizsgálat eredményei (2%, 5/246) meghaladják Európa más részein tapasztalt prevalenciát (kb. 1% vagy az alatt). A juh vetélések során gyakran fennálló szubklinikai *C. burnetii* fertőzés és a Baranya megyei Q-láz járvány felhívja a figyelmet a hazai juhászatok higiéniai helyzete javításának a szükségességére. A vad kérődzőkre vonatkozóan egy korábbi spanyol vizsgálat áll rendelkezésre, ahol a mi kutatásunkhoz hasonlóan a gímszarvas minták 5,1%-ból (4/78) mutatták ki a *C. burnetii* DNS-ét.

Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy a *C. burnetii* igen elterjed a hazai házi kérődző állományokban. Elsősorban kiskérődzőkben, időnként a vetélés közvetlen kiváltó oka is lehet a fertőzés. Szarvasmarhában inkább csak szubklinikai megbetegedést okoz és Magyarországon sem tekinthető jelentős vetélést okozó kórokozónak. A vadon élő kérődzőkben pedig csak elvétve fordul elő a *C. burnetii* hordozása.

Új tudományos eredmények

1. Immunhisztokémiai módszert fejlesztettünk ki a mezei nyúl (*Lepus europaeus*) brucellózisának kimutatására.
2. Az *omp31* gén természetes gátlását mutattuk ki az IS711 beékelődése következtében *B. ovis*-ban. Bizonyítottuk, hogy az IS711 természetes körülmények között is mobilis genetikai elem lehet a *B. ovis* genomjában.
3. Elsőként mutattuk ki a *B. canis* jelenlétét Magyarországon, és leírtuk, hogy jelentős szaporodásbiológiai zavarokkal járó megbetegedéseket tud okozni hazánkban is.
4. Elsőként mutattuk ki, hogy a *B. canis* képes a gazdaszervezeten belül, az időbeli és térbeli változások függvényében mutálódni.
5. Elsőként izoláltuk a *B. microti*-t vaddisznóból (*Sus scrofa*), és először mutattuk ki a kórokozó jelenlétét Magyarországon, valamint jellemeztük a kitenyészett baktériumot.
6. Kimutattuk, hogy egyes *B. suis* 2-es biotípusú törzsek sokkal inkább a mezei nyulakhoz, mind a vaddisznókhöz adaptálódtak. Az európai vaddisznó eredetű törzsek elsősorban földrajzi eredetük alapján mutatnak rokonságot. A sertés eredetűek nem alkottak különálló genetikai csoportot, hanem a vaddisznó és a mezei nyúl eredetű törzsekkel is rokonságban állnak, bizonyítva, hogy mind a vaddisznó, mind a mezei nyúl populációk a szabadon tartott sertés állományok fertőzési forrásai lehetnek.
7. Elsőként végezzük el egy púpú teve (*Camelus dromedarius*) eredetű *B. melitensis* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálatát, megállapítva, hogy mind az afrikai, mind a kelet-mediterrán kládba tartozó *B. melitensis* törzsek előfordulnak tevében.
8. Meghatároztuk a *C. burnetii* prevalenciáját Magyarországon. Megállapítottuk a tejelő szarvasmarha és juh állományok, kereskedelmi forgalomban kapható tejek, valamint kullancsok *C. burnetii* fertőzöttségét.
9. Feltártuk a magyarországi kérődző és emberi eredetű *C. burnetii* törzsek genetikai sokféleségét. Egy új MST (ST37) és két új MLVA (AF és AG) genotípust írtunk le.
10. Egy új MST (ST52) és két új MLVA (24/AH és 26/AI) mutattunk ki etiópai kullancsokból.
11. Az ST18-as genotípusú *C. burnetii* törzset azonosítottuk egy nagyszámú emberi megbetegedést kiváltó Q-láz járvány okozójaként.
12. Megállapítottuk, hogy a hazai juhokban időnként a vetélés közvetlen kiváltó oka is lehet a *C. burnetii* fertőzés, míg szarvasmarhában nem tekinthető jelentős vetélést okozó kórokozónak. Vadon élő kérődzőkben csak elvétve fordul elő a *C. burnetii* hordozása.

A doktori mű alapjául szolgáló közlemények

Brucellózis:

Gyuranecz M. Szeredi L, Rónai Z, Dénes B, Dencső L, Dán Á, Pálmai N, Hauser Z, Lami E, Makrai L, Erdélyi K, Jánosi S. Detection of *Brucella canis*-induced reproductive diseases in a kennel. J Vet Diagn Invest. 2011; 23:143-147.

Gyuranecz M. Erdélyi K, Makrai L, Fodor L, Szépe B, Mészáros AR, Dán A, Dencső L, Fassang E, Szeredi L. Brucellosis of the European brown hare (*Lepus europaeus*). J Comp Pathol. 2011; 145:1-5.

Gyuranecz M. Kreizinger Z, Horváth G, Rónai Z, Dán A, Nagy B, Szeredi L, Makrai L, Jánosi S, Hajtós I, Magyar T, Bhide M, Erdélyi K, Dénes B. Natural IS711 insertion causing *omp31* gene inactivation in *Brucella ovis*. J Vet Diagn Invest. 2013; 25:234-238.

Gyuranecz M. Rannals BD, Allen CA, Jánosi S, Keim PS, Foster JT. Within-host evolution of *Brucella canis* during a canine brucellosis outbreak in a kennel. BMC Vet Res. 2013; 9:76.

Kreizinger Z, Foster JT, Rónai Z, Sulyok KM, Wehmann E, Jánosi S, **Gyuranecz M.** Genetic relatedness of *Brucella suis* biovar 2 isolates from hares, wild boars and domestic pigs. Vet Microbiol. 2014; 172:492-498.

Rónai Z, Kreizinger Z, Dán Á, Drees K, Foster JT, Bányai K, Marton S, Szeredi L, Jánosi S, **Gyuranecz M.** First isolation and characterization of *Brucella microti* from wild boar. BMC Vet Res. 2015; 11:147.

Gyuranecz M. Wernery U, Kreizinger Z, Juhász J, Felde O, Nagy P. Genotyping of *Brucella melitensis* strains from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) from the United Arab Emirates with multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. Vet Microbiol. 2016; 186:8-12.

Q-láz:

Gyuranecz M. Dénes B, Hornok S, Kovács P, Horváth G, Jurkovich V, Varga T, Hajtós I, Szabó R, Magyar T, Vass N, Hofmann-Lehmann R, Erdélyi K, Bhide M, Dán Á. Prevalence of *Coxiella burnetii* in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12:650-653.

Sulyok KM, Kreizinger Z, Hornstra HM, Pearson T, Szigeti A, Dán Á, Balla E, Keim PS, **Gyuranecz M.** Genotyping of *Coxiella burnetii* from domestic ruminants and human in Hungary: indication of various genotypes. *BMC Vet Res.* 2014; 10:107.

Sulyok KM, Hornok S, Abichu G, Erdélyi K, **Gyuranecz M.** Identification of novel *Coxiella burnetii* genotypes from Ethiopian ticks. *PLoS One.* 2014; 9:e113213.

Gyuranecz M. Sulyok K, Balla E, Mag T, Balazs A, Simor Z, Denes B, Hornok S, Bajnoczi P, Hornstra H, Pearson T, Keim P, Dan A. Q fever epidemic in Hungary, April to July 2013. *Euro Surveill.* 2014; 19. pii: 20863.

Kreizinger Z, Szeredi L, Bacsadi Á, Nemes C, Sugár L, Varga T, Sulyok KM, Szigeti A, Ács K, Tóbiás E, Borel N, **Gyuranecz M.** Occurrence of *Coxiella burnetii* and *Chlamydiales* species in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe. *J Vet Diagn Invest.* 2015; 27:206-210.

Köszönetnyilvánítás

Időrendi sorrendben legelőször dr. Erdélyi Károlynak szeretnék köszönetet mondani, akihez még egyetemi hallgatóként fordultam, és aki örömmel fogadta érdeklődésemet a vadegészségügy iránt, bevezetett az intézeti diagnosztika rejtelseibe és megtanított arra, hogy mi is az a tudományos kutatás, TDK témavezetőm volt, majd PhD hallgató koromban is folyamatosan segítette munkámat.

Hálás köszönettel tartozom prof. dr. Fodor Lászlónak, egykori PhD témavezetőmnek, hogy mindig támogatta kutatói pályafutásomat. Szeretnék köszönetet mondani Dr. Magyar Tibornak, aki PhD fokozatom megszerzése után állást ajánlott számomra az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézetében, s támogatta, hogy minél előbb saját lábra álljak és megalapíthassam kutatócsoportomat.

Szeretném megköszönni dr. Dán Ádámnak, dr. Dénes Bélának, dr. Hornok Sándornak, dr. Makrai Lászlónak, dr. Szeredi Leventének és dr. Tuboly Tamásnak a munkáim során kapott számtalan szakmai tanácsot, valamint a különböző vizsgálatokban nyújtott segítséget és kutatási együttműködést.

Köszönettel tartozom PhD hallgatóimnak és kutató csoportom minden tagjának a számtalan kutatási projektben való részvételért, munkáért, türelemért és vidámságért. Külön szeretném megköszönni dr. Kreizinger Zsuzsának és dr. Görföl-Sulyok Kinga Máriának a dolgozat témaköreiben végzett kutatásokban való közreműködését.

Köszönöm továbbá mindenkinek, aki társ szerzőm volt vagy a cikkek köszönetnyilvánításaiban szerepelt, továbbá akikkel együtt dolgoztam, illetve dolgozom kutatási feladataim megvalósítása során.

Hálásan köszönöm a kutatásaimhoz nyújtott állandó családi háttérrel és türelmet feleségemnek, Tasnádi Katalinnak és kislányaimnak, Annának, Dorottyának és Bertának. Köszönöm továbbá szüleimnek és testvéremnek is, hogy bíztattak és támogattak a kutatói pályára lépésben.

Kutatásaimat a Magyar Tudományos Akadémia Lendület pályázata (LP2012-22), a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal K_16 (119594) és KKP19-Élvonal (129751) pályázataival, Az EU FP7 ASKLEPIOS pályázata, továbbá az MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíja és az Innovációs és Technológiai Minisztérium Új Nemzeti Kiválóság Programjának Bolyai+ Felsőoktatási Fiatal Oktatói, Kutatói Ösztöndíjai támogatták.