

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**A Francisellaceae családba tartozó egyes baktériumok
összehasonlító vizsgálata**

PhD értekezés tézisei

Kreizinger Zsuzsa

2016

Témavezet és témabizottsági tagok:

Dr. Gyuranecz Miklós, Ph.D.
Magyar Tudományos Akadémia
Agrártudományi Kutatóközpont
Állatorvos-tudományi Intézet
témavezet

Mangesh Bhide, Ph.D.
Állatorvos-tudományi és Gyógyszertani Egyetem, Kassa
Mikrobiológiai és Immunológiai Tanszék
témabizottság tagja

Dr. Makrai László, Ph.D.
Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Kar
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
témabizottság tagja

Dr. Hornok Sándor, Ph.D., Habil.
Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Kar
Parazitológiai és Állattani Tanszék
témabizottság tagja

Bevezetés

A Francisellaceae családba tartozó baktériumok köre gyors ütemben bővült az utóbbi évtizedekben. Jelenleg a Francisellaceae családba hat *Francisella* faj és számos *Francisella* változat tartozik. A Francisellaceae családon belül nagy a genetikai hasonlóság az egyes tagok között (Keim *et al.*, 2007).

Francisella-szer endoszimbiontákat (FLE) világszerte leírtak valódi kullancsokban és óvantagokban (Barns *et al.*, 2005). A közeli rokonság révén, a patogén *F. tularensis* kimutatására használt hagyományos PCR módszerek alkalmazása során a FLE-k jelenléte hamis eredményekhez vezethet a rutin diagnosztikában (Kugeler *et al.*, 2005).

A *Francisella tularensis* egy fakultatív intracelluláris, zoonótikus baktérium, a tularaemia kórokozója és potenciális biológiai fegyver. Európában a mérsékelt megbetegítő képességgel rendelkező *F. tularensis* ssp. *holarctica* alfaj endémiás. Filogenetikai vizsgálatok alapján két fő genotípus jelenlétét állapították meg a kontinensen, melyek földrajzi elterjedtségükben jól elkülönülnek. A nyugat-európai országokban a B.FTNT002-00, míg közép- és kelet-európai országokban a B.12-es genotípus jellemző (Gyuranecz *et al.*, 2012a, Vogler *et al.*, 2009a).

A *F. tularensis* több mint 300 állatfajt képes megfertézni, melyek különböző mértékben fogékonyak a megbetegedésre (Keim *et al.*, 2007). Közép-Kelet-Európában a mezei nyúl (*Lepus europaeus*) a fő rezervoár gazdája a baktériumnak. A térségben leggyakrabban szubakut vagy krónikus elváltozásokat figyeltek meg a tularaemiás nyulakban (Gyuranecz *et al.*, 2010b). Ezzel szemben Nyugat-Európában tularaemiában elpusztult mezei nyulakban akut kórlefolyásra utaló elváltozások a jellemzőek (Decors *et al.*, 2011, Rijks *et al.*, 2013).

A *F. tularensis* a nyirokcsomó-gyulladástól kezdve a szisztémás, vérfertőzőes megbetegedésig hatféle kórformát képes előidézni embereken. A tularaemiás betegeket a megfelelő antibiotikumokkal gyógyítani lehet (Ellis *et al.*, 2002).

Hazánkban közegészségügyi és gazdasági jelentőséggel is bír a baktérium. Az ország él mezei nyúl exportjának szempontjából fontos a tularaemia-mentes nyúlállomány (Somogyi, 2006).

Célkit zések

Az értekezés célkit zései:

- Ad 1.** *F. tularensis* és FLE-k el fordulásának vizsgálata Magyarországról és Etiópiából származó kullancsokban, illetve a kimutatott endoszimbionták genetikai változatosságának elemzése;
- Ad 2.** a hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek összehasonlító genetikai vizsgálata nagy felbontóképesség molekuláris módszerekkel;
- Ad 3.** a gazda és kórokozó közti kölcsönhatások vizsgálata különböz *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek és a tularaemiára eltér mértékben fogékony állatfajok komplement rendszere között;
- Ad 4.** az Európában elterjedt két f *F. tularensis* ssp. *holarctica* genotípusba tartozó törzsek virulenciájának összehasonlítása;
- Ad 5.** hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek antibiotikum érzékenységi profiljának meghatározása.

Anyag és módszer

F. tularensis ssp. holarctica törzsek és kullancsgyjtések

Magyarország hat megyéjében 2003 és 2014 között gyjtött, 69 *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzset vizsgáltunk. A törzsek 67 mezei nyúlból, illetve 3 állatkerti majomból származtak. A vizsgálatokba két Nyugat-Európában (Olaszország és Spanyolország) gyjtött törzset és a gyengített vakcina törzset (live vaccine strain, LVS, NCTC 10857) is bevontuk.

Összesen 16 kullancsfaj 5806 egyedét vizsgáltuk Francisellaceae családba tartozó mikrobák jelenlétére. A kullancsok Magyarországról és Etiópiából, három gyjtési időszaktól származtak. A hazai kullancsmintákat a környezetből, kismélt sörkéről, illetve vándormadarokról gyjtöttük. Az etiópiai mintagyjtés során szarvasmarhákról távolítottuk el a kullancsokat.

Molekuláris módszerek

A *F. tularensis* és a FLE-k kullancsokból történő kimutatására Francisellaceae-specifikus 16S rRNS, *tul4* és *sdhA* gén alapú hagyományos PCR-eket használtunk (Barns *et al.*, 2005, Long *et al.*, 1993, Sjöstedt *et al.*, 1997). A kimutatott *Francisella* változatokat a szekvenciájuk alapján azonosítottuk és filogenetikai viszonyukat elemeztük.

A *tul4* génre tervezett faj-specifikus PCR-t használtuk a *F. tularensis* kimutatására, valamint a B.FTNT002-00 és B.12 genotípusok elkülönítésére az RD23-as genomrégió alapú PCR-t alkalmaztuk (Dempsey *et al.*, 2007, Versage *et al.*, 2003).

A 69 hazai törzs genetikai vizsgálata során az egyes genotípusok meghatározására alkalmas pontmutációk (canSNP) elkülönítésére olvadási görbék elemzésén alapuló eljárást (mismatch amplification mutation assay) alkalmaztunk (Chanturia *et al.*, 2011, Gyuranecz *et al.*, 2012a, Vogler *et al.*, 2009a). A rokonsági viszonyok további felbontására tandem ismétlődő szakaszok számának meghatározásán alapuló, ún. multi-locus variable number of tandem repeats (MLVA) elemzést végeztünk (Vogler *et al.*, 2009b).

Kilenc, válogatott törzs teljes genom szekvenciáját új generációs szekvenálási módszerrel (Illumina MiSeq) határoztuk meg.

Gazda és kórokozó közti kölcsönhatások vizsgálata

Komplement-érzékenységi próbák során különböző virulenciájú és genotípusú *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzs túlélését vizsgáltuk a tularaemiára eltérő mértékben fogékony állatfajok vérsavójában. Az Európában elterjedt két fő *F. tularensis* ssp. *holarctica* genotípus (a B.FTNTF002-00 /n=2/ és a B.12 /n=1/) vad, virulens baktérium törzseit és a gyengített LVS törzset vizsgáltuk. A kísérletben a tularaemiára rendkívül fogékony egér, mérsékelten fogékony (rezervoár) mezei nyúl és a rezisztens szarvasmarha vérsavóját használtuk. Vizsgáltuk továbbá a komplement rendszert szabályzó H-faktor kötődését a bakteriális fehérjékhez Western-blot és pull-down eljárások során.

Mesterséges fertőzési kísérlet

A *F. tularensis* ssp. *holarctica* különböző genotípusaiba (B.FTNTF002-00 és B.12) tartozó egy-egy törzs virulenciáját hasonlítottuk össze mesterségesen fertőzött Fischer 344 patkányokban. A patkányokat hasüregbe oltottuk a baktériumoldatok háromféle koncentrációjával. Az állatokat 21 napon keresztül naponta ellenőriztük. A patkányokon kóronctani, kórszövetteni és immunhisztokémiai vizsgálatokat, illetve tárgylemez-agglutinációs próbát végeztünk.

Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

Különböző területekről és állatfajokból származó, többféle genotípusú, 29 hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzs antibiotikum érzékenységét vizsgáltuk. Szilárd táptalajon, kereskedelmi forgalomban kapható teszt csíkok segítségével határoztuk meg az antibiotikumok minimum gátló koncentráció (MIC) értékét. Az eritromicin, sztreptomycin, gentamicin, ciprofloxacín, levofloxacín, tetraciklin, doxiciklin, tigeziklin, rifampicin, linezolid és klóramfenikol MIC értékét vizsgáltuk. A határértékeket a Clinical and Laboratory Standards Institute ajánlásai alapján határoztuk meg (CLSI, 2009).

Eredmények

Kullancsokból kimutatott Francisellaceae változatok Magyarországon és Etiópiában

Két hazai *Haemaphysalis concinna* és egy *Dermacentor reticulatus* DNS poolban mutattunk ki *F. tularensis* ssp. *holarctica*-t, ami poolonként legalább 1 fertőzött kullanccsal számolva 0,27% minimum prevalenciát jelent kullancsfajonként. Tizenegy, a környezetből gyűjtött *D. reticulatus* DNS poolból mutattunk ki egy FLE változatot, és ebben az esetben 3%-os minimum prevalenciát állapítottunk meg. Ezt a FLE-t korábban már más európai országokban is kimutatták *D. reticulatus* kullancsokban. A vándormadarakról gyűjtött kullancsok vizsgálatakor egy új FLE változatot találtunk egy új gazdában, az *Ixodes ricinus*-ban. Egy korábban már Európában, más kullancsfajokban leírt FLE változatot mutattunk ki egy etiópiai *Hyalomma rufipes*-ben is.

Hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek genotipizálása

A filogenetikai elemzéseink alapján az összes hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzs a B.12-es fő genotípusba tartozott. A canSNP elemzés során 8 genetikai alcsoportra osztottuk a hazai törzseket, melyek közül a B.33/34 csoportba vagy annak leszármazott csoportjaiba tartozott a törzsek 89.85%-a (62/69). További 14 alcsoportot különböztettünk meg MLVA módszerrel három, canSNP tipizálás során meghatározott alcsoporton belül. Egyes területeken az adott járványok alatt különböző genotípusú törzseket tudtunk kimutatni. A Szegedi Vadasparkból származó állatkerti majmokban 2003-ban, majd 2014-ben kimutatott törzsek MLVA profilja teljesen megegyezett. A teljes genom szekvenálás eredményei alapján is viszonylag nagy genetikai változatosságot mutattak a hazai törzsek.

Gazda és kórokozó közti kölcsönhatások vizsgálata

Hasonló mértékben mutatott ellenállást a különböző gazdafajok komplement rendszerével szemben az összes vad, virulens törzs. A vizsgált genotípusok komplement-érzékenységében nem találtunk különbséget. A gyengített LVS törzs csak az egér vérsavójában élt túl, a nyúl és szarvasmarha vérsavójában elpusztultak a baktériumok.

A H-faktor és a bakteriális fehérjék között direkt, specifikus kötődést nem tudtunk kimutatni.

A B.12 és B.FTNF002-00 genotípusok virulenciájának összehasonlítása

A mesterséges fertőzést követően 4-12. nap között mutattak klinikai tüneteket a patkányok. Nem találtunk összefüggést a beadott dózis és a kialakult klinikai tünetek súlyossága, illetve a fertőzésben elhullott állatok száma között. Bár statisztikailag a különbség nem volt szignifikáns ($p=0,066$), több patkány mutatott súlyos klinikai tüneteket a B.FTNF002-00 genotípussal oltottak közül. Összesen a B.FTNF002-00 genotípussal oltott patkányok 33%-a (6/18), míg a B.12 genotípussal oltott állatok csupán 11%-a (2/18) pusztult el tularaemiában.

Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

Az összes *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzs rezisztens volt eritromicinnel (>256 mg/L) és linezoliddal (32 mg/L) szemben. A törzsek a 90%-uk növekedését gátló MIC értékek alapján érzékenyek bizonyultak aminoglikozidokra (gentamicin, 0.75 mg/L; sztreptomycin, 6.0 mg/L), fluorokinolonokra (ciprofloxacín, 0.047 mg/L; levofloxacín, 0.023 mg/L), tetraciklinekre (tetraciklin, 0.5 mg/L; doxiciklin, 1.0 mg/L), rifampicinre (1.0 mg/L), tigeciklinre (0.19 mg/L) és klóramfenikolra (1.5 mg/L).

Megbeszélés

Kullancsokból kimutatott Francisellaceae változatok Magyarországon és Etiópiában

Hazánkban tekintettel kell lenni a tularaemiával fertőzött kullancsok jelentette közegészségügyi veszélyekre, mivel ahogy azt az eredményeink is alátámasztották, a tularaemia járványtanában a kullancsoknak is szerepe van (Gyuranecz *et al.*, 2010d). Az Európa-szerte kimutatott *D. reticulatus* FLE esetében azt feltételezzük, hogy ez az endoszimbionta alkalmazkodott gazdájához, illetve közös törzsféjlésen mehetett vele keresztül. Elsőként mutattunk ki FLE változatot *Ixodes* fajban, és az endoszimbionta egy új változatnak bizonyult. Közeli rokonságot mutattak az afrikai és európai kullancsokból származó FLE-k. A különböző kullancsfajokból kimutatható FLE-k hasonlósága azt bizonyítja, hogy a FLE-k többsége gazdájától függetlenül fejlődött (Scoles, 2004).

Hazai *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek genotipizálása

A hazai törzsek genotipizálása során viszonylag nagy genetikai változatosságot mutatott a *F. tularensis* ssp. *holarctica* az országban. Feltételezések szerint az egyes *Francisella* törzsek megnövekedett fertőző képessége helyett a tularaemia járványokat környezeti hatások idézhetik elő (Gyuranecz *et al.*, 2012b, Johansson *et al.*, 2014). Azzal, hogy az egyes járványkitörésekben többféle genotípusú törzset mutattunk ki, eredményeink alátámasztják ezt a feltételezést. Az emberi megbetegedések megelőzése szempontjából fontos tudni, hogy a baktérium képes hosszú ideig fennmaradni egy adott fertőző gócban a környezetben, amit a 10 év különbséggel kimutatott, mégis azonos genotípussal rendelkező törzsek is bizonyítanak.

Gazda és kórokozó közti kölcsönhatások vizsgálata

Különbségeket találtunk a különböző virulenciájú baktérium törzsek érzékenységében a vizsgált gazdafajok komplement rendszerének baktériumöl képességével szemben. Emberekben korábban leírták a *F. tularensis* komplement szabályozó H-faktort megkötő képességét (Ben Nasr és Klimpel, 2008). A vizsgálataink során a különböző gazdafajok komplement rendszere és a kórokozók közötti folyamatokban a H-faktor közvetlen kötődésének szerepét nem tudtuk kimutatni.

A B.12 és B.FTNF002-00 genotípusok virulenciájának összehasonlítása

Míg a *F. tularensis* ssp. *tularensis* populációk között ismertek egyértelmű különbségek, a széles körben elterjedt *F. tularensis* ssp. *holarctica* populációiról csak keveset tudunk (Keim *et al.*, 2007). A vizsgálataink során különbséget találtunk a *F. tularensis* ssp. *holarctica* két európai genotípusához tartozó törzsek megbetegítő képességében. Az eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy a nyugat-európai B.FTNF002-00 genotípus mérsékelten virulensebb a kelet-európai, B.12-es genotípusnál.

Antibiotikum-érzékenységi vizsgálatok

Az *in vitro* vizsgálataink alapján hazánkban elsősorban a fluorokinolonok alkalmazása javasolt a tularaemia kezelésére. Hatékonyak lehetnek *F. tularensis* ellen még az aminoglikozidok, tetraciklinek és a klóramfenikol is a térségben. Biztató a kimutatott *in vitro* hatékonysága a tigeziklinnek a kórokozóval szemben, de az antibiotikum tularaemia gyógykezelésére való felhasználása előtt további *in vivo* vizsgálatok szükségesek. A makrolidok (pl. eritromicin) és a linezolid használata tularaemiás esetekben kerülendő az országban.

Új tudományos eredmények

- Ad 1.** Magyarországon fontos szerepet töltenek be a kullancsok a tularaemia járványtanában. A *D. reticulatus*-ban kimutatott FLE vélhetőleg legalkalmazkodott kullancsgazdájához, míg a FLE-k többsége függetlenül fejlődött gazdafajától. Egy új FLE változatot mutattunk ki egy új gazdafajban, az *I. ricinus*-ban. Az európai és afrikai kullancsokból származó FLE-k közeli rokonságban állnak egymással.
- Ad 2.** A *F. tularensis* ssp. *holarctica* alfaj viszonylag nagy genetikai változatosságot mutat hazánkban. A járványokat környezeti hatásra aktiválódó több, különböző genotípusú törzs idézheti elő. A kórokozó képes mutálódás nélkül hosszú ideig fennmaradni a környezetben.
- Ad 3.** A vad, virulens *F. tularensis* ssp. *holarctica* törzsek képesek elkerülni az egér, mezei nyúl és a szarvasmarha komplement rendszerének baktériumölő hatását. A gyengített LVS törzs ezzel szemben csak a tularaemiára rendkívül fogékony egér immunrendszerét képes kijátszani. A H-faktor direkt, specifikus kötődése a baktériumok felületén nem szükséges a vizsgált állatfajokban a komplement rendszer elkerüléséhez, vagy a H-faktor megkötéséhez egy köztes molekulára is szüksége van a baktériumnak.
- Ad 4.** A Nyugat-Európában jellemző *F. tularensis* ssp. *holarctica* genotípus mérsékelten virulensebb a Közép-Kelet-Európában elterjedt genotípusnál.
- Ad 5.** Levofloxacin, ciprofloxacin és doxiciklin javasolt tularaemia kezelésére hazánkban. A jövőben a tularaemia gyógykezelésére hasznos lehet az *in vitro* eredmények alapján a tigeciklin is. A makrolidok és linezolid használata tularaemia kezelésére kerülendő a térségben.

Publikációs lista

A kutatás témájával kapcsolatban, lektorált tudományos folyóiratokban megjelent közlemények

1. **Kreizinger Z.**, Makrai L., Helyes G., Magyar T., Erdélyi K., Gyuranecz M.: **Hazai Francisella tularensis ssp. holarctica törzsek antibiotikum-érzékenységének vizsgálata** (másodközlés), Magy. Állatorvosok Lapja, 137. 377-383, 2015.
2. **Kreizinger Z.**, Bhide, M., Bencurova, E., Dolinska, S., Gyuranecz, M.: **Complement sensitivity and factor H binding of European Francisella tularensis ssp. holarctica strains in selected animal species**, Acta Vet. Hung., 63. 275-284, 2015.
3. **Kreizinger Z.**, Szigeti A., Hornok S., Duressa G.A., Gyuranecz M.: **Detection of Francisella-like endosymbiont in Hyalomma rufipes from Ethiopia**, Ticks Tick-borne Dis., 5. 818-820, 2014.
4. **Kreizinger Z.**, Makrai L., Helyes G., Magyar T., Erdélyi K., Gyuranecz M.: **Antimicrobial susceptibility of Francisella tularensis subsp. holarctica isolates from Hungary, Central Europe**, J. Antimicrob. Chemother., 68. 370-373, 2013.
5. **Kreizinger Z.**, Hornok S., Dán Á., Hresko, S., Makrai L., Magyar T., Bhide, M., Erdélyi K., Hofmann-Lehmann, R., Gyuranecz M.: **Prevalence of Francisella tularensis and Francisella-like endosymbionts in the tick population of Hungary and the genetic variability of Francisella-like agents**, Vector-borne Zoonot. Dis., 13. 160-163, 2013.
6. Hornok S., Csörgő T., de la Fuente, J., Gyuranecz M., Privigyei Cs., Meli, M.L., **Kreizinger Z.**, Gönczi E., Fernández de Mera, I.G., Hofmann-Lehmann, R.: **Synanthropic birds associated with high prevalence of tick-borne rickettsiae and with the first detection of Rickettsia aeschlimannii in Hungary**, Vector-borne Zoonot. Dis., 13. 77-83, 2013.

Egyéb, lektorált folyóiratokban megjelent tudományos közlemények

1. **Kreizinger Z.**, Sulyok K.M., Makrai L., Rónai Z., Fodor L., Jánosi S., Gyuranecz M.: **Antimicrobial susceptibility of Bacillus anthracis strains from Hungary**, Acta Vet. Hung., 64:(2), 2016.
2. **Kreizinger Z.**, Szeredi L., Bacsadi Á., Nemes C., Sugár L., Varga T., Sulyok K.M., Szigeti A., Ács K., Tóbiás E., Borel, N., Gyuranecz M.: **Occurrence and significance of Coxiella burnetii and Chlamydiales in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe**, J. Vet. Diagn. Invest., 27. 206-210, 2015.
3. **Kreizinger Z.**, Sulyok K.M., Pásztor A., Erdélyi K., Felde O., Povazsán J., Kőrösi L., Gyuranecz M.: **Rapid, simple and cost-effective molecular method to differentiate the temperature sensitive (ts+) MS-H vaccine strain and wild-type Mycoplasma synoviae isolates**, Plos ONE, 10. e0133554, 2015.
4. **Kreizinger Z.**, Foster, J.T., Rónai Z., Sulyok K.M., Wehmann E., Jánosi S., Gyuranecz M.: **Genetic relatedness of Brucella suis biovar 2 isolates from hares, wild boars and domestic pigs**, Vet. Microbiol., 172. 492, 2014.
5. Rónai Z., **Kreizinger Z.**, Dán Á., Drees, K., Foster, J.T., Bányai K., Marton S., Szeredi L., Jánosi S., Gyuranecz M.: **First isolation and characterization of Brucella microti from wild boar**, BMC Vet. Res. 11. 147, 2015.
6. Sulyok K.M., **Kreizinger Z.**, Fekete L., Jánosi S., Schweitzer N., Turcsányi I., Makrai L., Erdélyi K., Gyuranecz M.: **Phylogeny of Mycoplasma bovis isolates from Hungary based on multi locus sequence typing and multiple-locus variable-number tandem repeat analysis**, BMC Vet. Res., 10. 108, 2014.
7. Sulyok K.M., **Kreizinger Z.**, Hornstra, H.M., Pearson, T., Szigeti A., Dán Á., Balla E., Keim, P.S., Gyuranecz M.: **Genotyping of Coxiella burnetii from domestic ruminants and human in Hungary: indication of various genotypes**, BMC Vet. Res., 10. 107, 2014.

8. Sulyok K.M., **Kreizinger Z.**, Fekete L., Hrivnák V., Magyar T., Jánosi S., Schweitzer N., Turcsanyi I., Makrai L., Erdélyi K., Gyuranecz M.: **Antibiotic susceptibility profiles of Mycoplasma bovis strains isolated from cattle in Hungary Central Europe**, BMC Vet. Res., 10. 256, 2014.
9. Gyuranecz M., **Kreizinger Z.**, Horváth G., Rónai Z., Dán Á., Nagy B., Szeredi L., Makrai L., Jánosi S., Hajtós I., Magyar T., Bhide, M., Erdélyi K., Dénes B.: **Natural IS711 insertion caused Omp31 gene suppression in Brucella ovis**, J Vet. Diagn. Invest., 25. 234-238, 2013.
10. Rónai Z., Csivincsik Á., Gyuranecz M., **Kreizinger Z.**, Dan Á., Jánosi S.: **Molecular analysis and MIRU-VNTR typing of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis strains from various sources**, J. Appl. Microbiol., 118. 275-283, 2014.
11. Juma, A., Cera, I., Boci, J., Haxha, L., **Kreizinger Z.**, Gyuranecz M., Koleci, X.: **Serological investigation on Chlamydomphila abortus infection in cattle from Albania**, Albanian J. Agric. Sci., 12. 99-102, 2013.
12. Gyuranecz M., Foster, J.T., Dán Á., Ip, H.S., Egstad, K.F., Parker, P.G., Higashiguchi, J.M., Skinner, M.A., Höfle, U., **Kreizinger Z.**, Dorrestein, G.M., Solt S., Sós E., Kim, Y.J., Uhart, M., Pereda, A., González-Hein, G., Hidalgo, H., Blanco, J.M., Erdélyi, K.: **Worldwide phylogenetic relationship of Avian Poxviruses**, J.Virol., 87. 4938-4951, 2013.

Köszönetnyilvánítás

El ször is szeretném megköszönni témavezet mnek, **Gyuranecz Miklósnak** az elmúlt évek során nyújtott támogatást és bátorítást, és a lankadatlan türelmet és pozitív hozzáállást.

Köszönettel tartozom **Mangesh Bhide** tanácsaiért és nagylelk ségéért, amikben kassai tanulmányutam során részesített.

Köszönet illeti **Erdélyi Károlyt** a támogatásért és segít készségért. Köszönöm **Dán Ádámnak**, **Dénes Bélának** és **Makrai Lászlónak**, hogy megosztották velem szakmai tapasztalataikat és segítették munkámat. Hálás vagyok, amiért betekintést nyerhettem és részt vehettem **Mats Forsman** és **Elin Nilsson** munkájában. Köszönet illeti a vizsgálataimban nyújtott közrem ködésért **Hornok Sándort**, **Massimo Fabbi-t** és **Pedro Anda-t**. Nagy örömömmre szolgál megköszönni **Ráczné Mészáros Ágnes**, **Stohl Gyuláné Anna** és **Lakosi Szilvia** kiváló laboratóriumi munkáját.

Külön köszönetet érdemel **Elena Bencurova**, **Juhász Ágnes**, **Ottinger Ern né Mária**, **Szigeti Alexandra**, **Sulyok Kinga Mária**, **Hrivnák Veronika** és **Felde Orsolya** a vég nélküli türelméért és segít készségéért.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni a **családomnak** és **barátaimnak** szeretetüket és támogatásukat.

A vizsgálatokhoz az anyagi forrást a Magyar Tudományos Akadémia **Lendület (Momentum) programja** (LP2012-22) és a Szlovák Nemzeti Ösztöndíj Program **SAIA pályázata** (66801) biztosította.