



DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Hepatitiszt okozó vírusok molekuláris
vizsgálata**

N. Szomor Katalin

Budapest

2009.

A doktori iskola


megnevezése: Budapesti Corvinus Egyetem, Budai Campus


tudományága: Élettudományok Területi Doktori Tanács, Élelmiszertudományi Doktori Iskola

vezetője: Dr. Fodor Péter
Tudományos rektorhelyettes, tanszékvezető egyetemi tanár, kutatócsoport-vezető, DSc
Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Matematika és Informatika Tanszék

Témavezető: Dr. Takács Mária PhD
főosztályvezető, címzetes egyetemi docens,
Országos Epidemiológiai Központ, Virologiai főosztály

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.


.....
Az iskolavezető jóváhagyása


.....
A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

A világ legjelentősebb népegészségügyi problémái közé tartozik a vírusok által okozott májgyulladás (hepatitisz). A májgyulladást okozó vírusok sem struktúrájukban, sem genetikailag, sem terjedési módjukban nem egységes víruscsoport, az általuk okozott kórképek súlyosságában is alapvető különbségek tapasztalhatók. Ismereteink ebben a témában szinte napi szinten bővülnek: a molekuláris módszerek térhódításával és rohamos fejlődésével új távlatok nyíltak a kórokozók, azon belül a vírusok felfedezésében és megismerésében. Az elmúlt két-három évtizedben majdnem annyi hepatitiszrel összefüggésbe hozott kórokozót azonosítottak, mint az ezt megelőző 100 évben: nem egészen 3 évtizede az ismeretlen, feltehetően virális eredetű hepatitiszeket „*nonA-nonB*” hepatitisz vírusokként említették, mára ez az elnevezés – a tények ismeretében – leginkább „*nonA-nonG*”-ként használatos. Ennek ellenére, még napjainkban is vannak olyan májgyulladásban szenvedő betegek, akiknél a kórokozót nem sikerül azonosítani.

Az országhatárok 20 évvel ezelőtti megnyílásával, könnyebb átjárhatóságával nem csak az emberek vándorlása indult meg, hanem általuk a hordozott vírusoké is. A migrációval a mikroorganizmusok eddig ismert földrajzi eloszlása elmosódottabbá válik, újabb és újabb területeken bukkanhatnak fel eddig ott nem jellemző kórokozók.

2. CÉLKITŰZÉSEK

Célul tűztük ki, hogy

- 2.1. feltérképezzük a Magyarországon előforduló hepatitisz B és TT vírusok genotípusait, amely ismereteknek szerepe lehet a betegek kezelésében. A munka gyakorlati hasznosíthatósága volt, hogy ezen eredményeink ismeretében (HBV genotípus eloszlás Magyarországon) és azok felhasználásával molekuláris epidemiológiai vizsgálatokat végezhetünk egy kórházi járvány betegek (onko-hematológiai osztályon kezelt) között, a betegek közös forrásból való fertőződésének igazolására vagy kizárására. További célunk volt, hogy elvégezzük a hepatitisz B vírusok genotípusokon belüli finomabb vizsgálatát, különös tekintettel a tömeges immunizáció immunszelektív hatása révén kialakuló vírusvariánsokra, amelyek a vakcináció ellenére is okozhatnak fertőzéseket.
- 2.2. vizsgáljuk a GBV-C/HGV és TT vírusok előfordulását ugyanezen rizikócsoportban (onko-hematológiai osztályon kezelt betegek, akik alapbetegségükből adódóan vért, vérkészítményeket gyakran kaphatnak), és eredményeinket összehasonlítsuk az egészséges populációban mérhető prevalenciával.
- 2.3. hazai sertéstelepeken tartott sertések mintáiban vizsgáljuk a TT vírusok előfordulását.

1. táblázat. Dolgozatban tárgyalt vírusok jellemzőinek összefoglalása.

VÍRUS elnevezés	HBV	HGV vagy GBV-C	TTV/ SENV
CSALÁD	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	javasolt: <i>Anelloviridae</i>
NEMZETSÉG	<i>Orthohepadna virus</i>	még nincs nemzetséghez sorolva	<i>Anellovirus</i>
VIRION			
méret (Ø - nm)	42	?	30-50
genomjellemzők	cirkuláris, 3,2 kilobázis, részlegesen kettős szálú DNS	lineáris, nem szegmentált, 9,6 kilobázis, egyszálú. (+) polaritású RNS	cirkuláris, 3,6-3,8 kilobázis, egyszálú DNS
burok	van	van	nincs
terjedési mód	parenterális	parenterális	parenterális és/vagy enterális
KÓRKÉP			
fulmináns hepatitisz	ritka	?	?
krónikus hepatitisz	~5 %	?	?
májsejtes karcinóma	igen	?	?
IMMUNIZÁCIÓS LEHETŐSÉGEK			
passzív	van	jelenleg nincs	jelenleg nincs
aktív	rekombináns HBsAg	jelenleg nincs	jelenleg nincs

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Vizsgálati anyagok

A vizsgálati mintákat (szérum minta) – a beérkezés után szétosztva – a vizsgálatok elvégzéséig -20°C-on tartottuk.

3.1.1. Szérum minták a hepatitisz B vírus magyarországi genotípus-eloszlásának meghatározásához

A HBV Magyarországon előforduló genotípusainak meghatározásához az intézetbe előzőleg diagnosztikus célból beküldött vérminták közül választottunk ki huszonnégyet. A kiválasztás feltételei csak a lakóhely, illetve az előzetes HBsAg pozitív eredmény voltak.

3.1.2. Nozokomiális járvány molekuláris epidemiológiai kivizsgálása

Egy gyermek onko-hematológiai osztályon kialakult, feltételezhetően kórházi járványban érintettek mintáit vizsgáltuk (29 beteg és 1 fő kórházi személyzet). A mintákat 2001-2003 között gyűjtötték. A beküldött minták mindegyike előzőleg HBsAg pozitív szerológiai eredményt adott.

3.1.3. „Vakcinaszökevény” vírusmutánsok keresése Magyarországon

Előzetes irodalmi adatok alapján feltételezhetően „B” és/vagy „C” genotípusú hepatitisz B vírust hordozó, Magyarországon élő személyek, HBsAg terhesszűrésre érkező mintáit gyűjtöttük

(összesen 40). A kiválasztást egy meghatározott időintervallumon belül érkezett minták közül végeztük el (2004-2006).

Szintén irodalmi adatok alapján, születésükkor aktív és passzív – *védőoltásban részesült gyermekek* vérmintáit vizsgáltuk (összesen 12).

A kiválasztást egy meghatározott időintervallumon belül érkezett minták közül végeztük el (2004-2006), a kiválasztás egy további szempontja a HBsAg pozitivitás, vagy a HBsAg negatív, de anti-HBc pozitív előzetes szerológiai eredmény volt.

A vizsgálatok során 9 magyar nevű, tünetmentes hordozó vérmintáját használtunk *kontrollként*.

3.1.4. Torque Teno vírus előfordulása rizikócsoportokban; TTV molekuláris vizsgálatok

A TT vírus különféle betegcsoportokban való előfordulásához 228, ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő beteg vérmintáját, valamint a 30, kórházi járványban érintett onko-hematológiai osztályról érkezett vérmintát vizsgáltuk meg. Meghatároztuk a TTV ismeretlen eredetű hepatitiszesekben előforduló genotípusait is. Az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek mintáit 1999-2001 között gyűjtöttük.

3.1.5. Torque Teno vírus előfordulása hazai sertésállományban tartott sertésállományban

Magyarországi sertésneveldekből származó 82 sertés szérummintáját vizsgáltuk TTV előfordulására. A mintákat 12 hónapos időintervallumban gyűjtöttük be.

3.1.6. GBV-C/HGV vírus előfordulása különböző rizikócsoportokban; molekuláris vizsgálatok

A GBV-C/HGV vírus különféle betegcsoportokban való előfordulásukhoz 247, ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő beteg mintáját vizsgáltuk molekuláris módszerrel (PCR). A PCR-rel párhuzamosan 51 betegnél ellenanyag kimutatást is végeztünk (ELISA). Az ismeretlen eredetű hepatitiszesek közül 9 beteg további molekuláris vizsgálatát is elvégeztük (szekvenálás). Vizsgáltuk továbbá a 30, kórházi (onko-hematológiai osztályon zajlott) járványban érintett beteg mintáját.

3.2. Vizsgálati módszerek

3.2.1. Szerológiai markerek

A szérumminták szerológiai markereinek vizsgálatára a következő reagenskészleteket használtuk: **HBsAg** — Hepanostika HBsAg UniForm II (Biomerieux), **Anti HBc IgM** — HBc IgM ELISA (DiaPro), **Anti HBc Ab** — Hepanostika anti-HBc UniForm (Biomerieux), **HBe Ag/Ab** — HBe Ag/Ab ELISA (DiaPro), **Anti-HAV Ab** — Bioelisa HAV (Biokit), **Anti HDV Ab** — HDV

Ab ELISA (DiaPro), **Anti HCV IgG** — Bioelisa HCV (Biokit), **GBV-C/HGV E2 Ab** — Anti GBV-C Immunoassay (R and D Systems).

3.2.2. Molekuláris vizsgálatok

Nukleinsav kivonás: A szérummintákból előzetes kezelés nélkül, alapvetően kétféle módon vontunk ki nukleinsavat (fenol-kloroformos extrakció, etanos precipitáció és szilika oszlopos tisztítási módszerek). **Reverz transzkripció:** A GBV-C/HGV polimeráz láncreakcióval történő kimutatását megelőzően a vírus RNS cDNS-sé való átírása reverz transzkripcióval történt, primerként „*random hexamert*” használtunk, és az előzőleg fenolos-kloroformos tisztítási módszerrel kivont nukleinsav 2-2 µl-jét adtuk hozzá. **Polimeráz láncreakció (PCR):** A *sertés TTV* kimutatására végzett PCR során egy szimpla, a *HBV*, *humán TTV*, *GBV-C/HGV* kimutatásához két, egymást követő (ún. fészkes - „*nested*”) polimeráz láncreakcióban szaporítottuk fel a primerek által közrefogott génszakaszt. A polimeráz láncreakció során felszaporított termékek (amplikonok) méretének (molekulatömegének) ellenőrzését **agaróz gél-elektroforézissel** végeztük, a termék molekulatömegének megállapításához ismert molekulatömegű DNS-fragmentumokat tartalmazó „molekulatömeg-létrát” használtunk. **Klónozás:** A TTV PCR termékek variabilitása miatt az egyes amplikonok szekvenciája csak klónozás utáni szekvenálással állapítható meg. A PCR termékeket a TOPO TA Cloning (Invitrogen) kit használatával pCR2.1 plazmidba ligáltuk. **DNS – szekvenálás:** A klónozott **TTV PCR termékeket** az AutoRead Sequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech) használatával szekvenáltuk, primerként *M13 Reverse primert* használtunk. Az elektroforézis az A.L.F. DNA Sequencer berendezésen történt. A **GBV-C/HGV PCR termékeket** az AutoRead Sequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech) használatával szekvenáltuk, primerként *M13 Universal primert* használtunk. Az elektroforézis az A.L.F. DNA Sequencer berendezésen történt. Ciklikus szekvenálás segítségével szekvenáltuk a keletkezett **HBV PCR termékeket**. A PCR termékek tisztítását a Viogene PCR-M Clean up System (Viogene) kittel végeztük. A szekvenálás és elektroforézis kivitelezése eltérő módon történt a HBV genotipizálás esetében (felhasznált reagenskészlet: ABI PRISM 3.1 BigDye Terminator kit Perkin Elmer; elektroforézis: ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer berendezésen), illetve a „vakcinaszökevény” vírusmutánsok keresése esetében (felhasznált reagenskészlet: DYEnamic ET — *Dye Terminator Cycle Sequencing Kit for MegaBACE DNA Analysis System*; elektroforézis: MegaBACE 1000 DNA Analysis System, Amersham Biosciences berendezésen). **Szekvencia azonosítás:** A kapott szekvencia eredményeket a nemzetközi génbankban (*EMBL/GenBank – Nucleotide Sequence Database*) található szekvenciákhoz való hasonlítással ellenőriztük az NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) honlapján található BLAST [*Basic Local Alignment Search Tool*] szoftverrel. A **nukleotid szekvencia illesztéseket** — a szekvencia-ellenőrzés után — a „*Pôle Bioinformatique*

Lyonnais” internetes oldalán elérhető többszörös illesztést végző szoftverrel [*Multiple alignment - ClustalW DNA sequences*] végeztük. A kapott nukleotid szekvenciák **fehérjére történő fordítását** a „*Baylor College of Medicine HGSC*” internetes oldalán elérhető, 6 leolvasási keretben fordító szoftverrel végeztük [BCM - 6 Frame Translation]. A megfelelő leolvasási keretben kapott aminosav szekvenciák aminosav szekvencia illesztését a „*Pôle Bioinformatique Lyonnais*” internetes oldalán elérhető többszörös illesztést végző szoftverrel [*Multiple alignment - ClustalW Protein sequences*] illesztettük a nemzetközi génbankban található aminosav szekvenciákhoz és egymáshoz. **Filogenetikai analízis:** Az illesztett nukleotid-szekvenciákat prototípus szekvenciákhoz hasonlítottuk és filogenetikai analízisnek vetettük alá. A **TTV esetében** a filogenetikai analízist a v3.573c verziószámú PHYLIP programcsomaggal, *dnadist* módszerrel, Kimura 2-paraméteres szubsztitúciós modell alkalmazásával végeztük, a fa topológiáját 1000x-es ismétléses Bootstrap analízissel ellenőriztük. A **HBV vizsgálatok esetében** a filogenetikai analízist a MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) szoftver 3.1 verziójával végeztük, Neighbor Joining módszerrel, Kimura 2-paraméteres szubsztitúciós modellel, a fa topológiáját 1000x-es ismétléses Bootstrap analízissel ellenőriztük. A kapott genotípus eredmények ellenőrzésére kereskedelmi forgalomban beszerezhető, hepatitisz B vírusok genotípusának meghatározására alkalmas, **hibridizációs** elven alapuló InnoLipa (Innogenetics) kitet használtunk.

4. EREDMÉNYEK ÉS AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

4.1. Hepatitisz B molekuláris vizsgálatok

4.1.1. Genotipizálási eredmények

A genotípusok előfordulására irányuló vizsgálatainkhoz 24, földrajzilag eltérő helyről származó akut/krónikus (HBsAg pozitív) vírushordozó mintáját molekuláris módszerekkel (polimeráz láncreakciót követő szekvenálás) vizsgáltuk. Leggyakrabban a „D” genotípus fordult elő 19/24 (79 %), de 5 beteg mintájában (21 %) „A” genotípusú vírust találtunk [Szomor, 2007]. Az eredményeket génbanki szekvenciákhoz történő hasonlítással és az azt követő filogenetikai analízissel kaptuk, és hibridizációval erősítettük meg. Eredményeink megfelelnek a korábban közölt, közép- és kelet-európai országokban kimutatott genotípus eloszlásnak.

4.1.2. Nozokomiális járvány molekuláris epidemiológiai kivizsgálása:

Egy kórházi osztályon kezelt betegek és kórházi dolgozók szerológiai szűrését követően 30 HBsAg pozitív minta molekuláris vizsgálatát végeztük el, a közös forrásból való fertőződésük igazolására vagy kizárására. Vizsgálataink alapján a kórházi járványnak közös forrása volt: a

filogenetikai analízis eredménye alapján a kórházi minták egy csoportba sorolódtak, egyértelműen különválva a Magyarország eltérő földrajzi helyeiről származó mintáktól [Szomor, 2007]. A járvány kiindulópontja feltehetően az adott osztályon fekvőbetegként ápolatott egyik beteg volt, akinek vérmintájával kontaminálódhatott eszköz, felület stb. A filogenetikai analízis arra nem ad választ, hogy ki lehetett az a beteg, akitől a többiek fertőződhetek, és arra sem, hogy vajon milyen módon történt a fertőződés. Az epidemiológiai kivizsgálás eredményeképpen feltételezhető, hogy a járvány kialakulása higiéniai hiányosságokra és az osztály túlszűfoltóságára vezethető vissza, melyek kiküszöbölése (egyszer-használatos eszközök szigorú bevezetése az invazív beavatkozások és a kezelések során, kéz- és felületfertőtlenítések gyakoriságának emelése, az ágyszám csökkentése az osztályon, vírusfertőzöttek izolált ápolási lehetőségének kialakítása) után újabb fertőzések már nem váltak ismertté.

4.1.3. „Vakcinaszökevény” vírusmutánsok keresése Magyarországon:

A nem magyar születési nevű várandós nők (40) mintáinak vizsgálata során a minták kicsit több, mint felében (10/19 - 52 %) találtunk valamilyen aminosav polimorfizmust a felületi antigén 115-166. aminosav pozíciói közé eső fehérjészakaszán, és csak egy esetben (P27) a vírusmutánsok kialakulásában kulcsfontosságúnak tartott hidrofíl hurkon (a 139-147. aminosav pozíciók közé eső fehérjészakaszán). A születéskor aktív és passzív immunizálásban részesült csecsemők (28) mintáiból csak 12 bizonyult további molekuláris vizsgálatra alkalmasnak, ezek közül 5 esetben (42 %) mutattunk ki olyan vírust, ahol az említett szakaszokon aminosav csere található, és ezek közül csak egy esetében esett ez a szubsztitúció a hidrofíl hurokra (V42).

A talált aminosav szubsztitúciós eltérések többségét – eredményeinket ezáltal is alátámasztva – már más kutatócsoportok is publikálták, ezen túlmenően néhány, eddig még nem publikált szubsztitúciós különbséget is sikerült kimutatnunk [Szomor, 2008].

4.2. Torque Teno vírus vizsgálatok

4.2.1. TTV előfordulása rizikócsoportokban; TTV molekuláris vizsgálatok

A 228, ismeretlen eredetű hepatitiszes beteg vizsgálata során 115 esetben (50,4 %) tudtuk a vírus DNS-ét kimutatni. Tizenhét beteg esetében végeztünk további molekuláris vizsgálatokat: a kapott PCR termékeket klónoztuk, majd az így kapott 26 klónt szekvenáltuk. Mind a 26 klón eltérő szekvenciájú vírus jelenlétét bizonyította, melyek nagy többséggel (24/26) az 1-es genocsoportba, míg két klón a 2-es genocsoportba tartozott. Ugyanazon betegek esetében mind azonos, mind pedig különböző genocsoportokba tartozó, több genotípussal való fertőzésekre is találtunk bizonyítékot. A vírusok nukleotidsorrendjében talált eltérések nem minden esetben fejeződtek ki aminosavsorrendbeli változásban [Takács, 2003].

Az onko-hematológiai kórházi osztályon kezelt betegek (29) mintáját vizsgáltuk TT vírus előfordulására. A 29 mintából 19 bizonyult pozitívnek (65,5 %).

Összehasonlítva az átlag magyarországi népességgel, a TTV esetében mindkét vizsgált csoportban jóval magasabb vírushordozási arányt találtunk: 18,5 % (egészséges populáció) vs. 50,4 % (ismeretlen eredetű hepatitiszesek) és 65,5 % (onko-hematológiai osztályon kezelték). Kijelenthető, hogy minden bizonnyal szerepet játszik e két vizsgált rizikócsoport magas TTV prevalencia értékeiben a vér (testnedvek) útján történő terjedési mód. A TTV 1-es genotípusától eltekintve – nem egyértelműen bizonyított a kapcsolat a magas előfordulási arány és bármilyen klinikai kórforma között.

4.2.2. TTV előfordulása hazai sertésletelepeken tartott sertésállományban

A TT vírus előfordulására végzett vizsgálatokhoz 13 hazai sertésletelepet választottunk ki. A vizsgálatokba bevont farmok 77 %-án (10/13) tartott állatállományban előfordult a vírus. Az összesen vizsgált 82 sertés 30 %-a (25 egyed) bizonyult pozitívnek. A vizsgálatok során elsőként mutattunk ki hazai sertésekből TT vírust [Takács, 2008].

4.3. GBV-C/HGV vírus vizsgálatok

4.3.1. GBV-C/HGV előfordulása rizikócsoportokban; GBV-C/HGV molekuláris vizsgálatok

Ismeretlen eredetű hepatitiszesek molekuláris vizsgálata során 247, ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő beteg mintáját vizsgáltuk GBV-C/HGV jelenlétére, a betegek mintáinak 14,6 %-ában találtunk kimutatható vírus RNS-t (36/247). Kilenc beteg esetében végeztünk további molekuláris vizsgálatokat (szekvenálás), egy beteg esetében pedig éveken át tartó nyomonkövetéses vizsgálatot. A kérdéses beteg nyomonkövetéses vizsgálata során a vírusgenom vizsgált szakaszán az évek során nem tapasztaltunk változást [Takács, 2002]. Az onko-hematológiai osztályon kezelt betegek vérmintáinak vizsgálata során 29 beteg mintáját vizsgáltuk GBV-C/HGV előfordulására, 9 beteg mintája bizonyult pozitívnek (31 %). Összehasonlítva az átlag magyarországi népességgel, a GBV-C/HGV esetében szintén mindkét vizsgált csoportban magasabb vírushordozási arányt találtunk: 8 % (egészséges populáció) vs. 14,6 % (ismeretlen eredetű hepatitiszesek) és 31 % (onko-hematológiai osztályon kezelték).

4.3.2. GBV-C/HGV ellenanyag vizsgálatok

A GBV-C/HGV vírus E² felületi fehérjéje ellen termelődött ellenanyag kimutatásához az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek mintái (247) közül 51-et vizsgáltuk párhuzamosan szerológiai módszerrel is (ELISA). Szeropozitivitást 39 %-uknál (20/51) találtunk, de a szeropozitívok mintáiban egy esetben sem lehetett a vírus RNS-ét kimutatni. Négy esetben lett

pozitív a GBV-C/HGV PCR, ezek a minták azonban feltehetően még nem tartalmaztak kimutatható mennyiségű anti E2 ellenanyagot. Huszonhét esetben nem tudtunk sem ellenanyagot, sem vírus nukleinsavat kimutatni [Takács, 2002].

5. LEGFONTOSABB EREDMÉNYEK, MEGÁLLAPÍTÁSOK, KÖVETKEZTETÉSEK

- 5.1. Megállapítottuk, hogy Magyarországon leggyakrabban „D” és „A” genotípusú hepatitisz B vírusok fordulnak elő. Ezek az eredmények megfelelnek a nemzetközi szakirodalomban eddig közölt adatoknak.
- 5.2. Bizonyítottuk, hogy az onko-hematológiai osztályon kezelt betegek között valóban nozokomiális járvány zajlott. A kórházi dolgozó és az egyik beteg bizonyosan nem tartoztak a kórházi járványhoz, és egymáshoz sem köthető a két eset. Mivel a járvány előtti adatok nem voltak ismertek, a filogenetikai vizsgálatok arra nem adtak választ, hogy melyik beteg által hordozott vírus lehetett a fertőzés kiindulópontja.
- 5.3. Alátámasztottuk azt a feltételezésünket, hogy Magyarországon is előfordulnak a nemzetközi szakirodalomban már leírt, „vakcinaszökevény” vírusvariánsok, melyek az oltás ellenére is okozhatnak fertőződést. Az általunk vizsgált, feltételezhető rizikócsoportok mindegyikéből („B” és „C” genotípussal fertőzöttek; születéskor aktívan/passzívan immunizált gyermekek) sikerült egy-egy ilyen vírusvariánst kimutatni. A „klasszikus”, leggyakrabban leírt mutációt azonban (a 145-ös aminosavpozícióban található glicin — arginin szubsztitúciót) az általunk vizsgált mintákegyikében sem találtuk meg. **Következtetésként összegezhető**, hogy feladataink vannak a vírus elterjedtségének kontrollálásában: a szerológiai ellentmondásos eredményeket molekuláris vizsgálatokkal alá kell támasztani, az esetlegesen előforduló nozokomiális járványokat molekuláris epidemiológiai módon is ki kell vizsgálni. További teendő az eredmények folyamatos publikálása is, hiszen ilyen módon érhető el, hogy a tudományos eredmények alapján a szerológiai reagenskészletet gyártó cégek egységesen érzékenyíthessék a teszteket. Amennyiben a „vakcinaszökevény” variáns vírusok előfordulása a populációban elér egy bizonyos szintet (ennek pontos megállapítása a járványügyi központok — pl. a CDC — feladata lesz) szükségessé válhat a vakcinában alkalmazott rekombináns fehérje-variációk kibővítése, ezáltal a vakcina többféle vírusvariánssal szemben nyújthat majd védelmet. Ezt jelenleg még nem tartják szükségesnek (a CDC-ben, 2009. június 4-5. között tartott, „*Drug-resistant and Vaccine-escape Hepatitis B Virus Mutants: Emergence and Surveillance*” szimpóziumon hallottak alapján).

- 5.4.** Az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek mintáinak felében (115/228 — 50,4 %), az onko-hematológiai osztályon kezelt betegek mintáinak 65,5 %-ában (19/29) sikerült TT vírust kimutatni. Mindkét vizsgált betegcsoport magasabb arányban hordozta a vírust az átlag, egészséges népességhez viszonyítva (18,5 %). Ezt a vizsgált betegcsoportok kezelésében gyakran előforduló invazív kezelésekkel (transzfúzió, transzplantáció, immunszuppresszív kezelések, stb.) magyaráztuk.
- 5.5.** Az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek TT vírusai döntően (24/26) az 1-es genocsoportba (azon belül — 2 betegtől származó 3 klón — a klinikai tünetekkel is összefüggésbe hozott 1-es genotípusba), míg 2 klón a 2-es genocsoportba tartozott. Ugyanazon betegek esetében mind azonos, mind pedig különböző genocsoportokba tartozó, több genotípussal való fertőzésekre is találtunk bizonyítékot. A vírusok nukleotidsorrendjében talált eltérések nem minden esetben fejeződtek ki aminosavsorrendbeli változásban.
- 5.6.** Hazánkban elsőként mutattunk ki sertésekből TT vírust. A vizsgálatba bevont farmok többségén (10/13) találtunk vírushordozó egyedeket.
- 5.7.** Az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek mintáinak 14,6 %-ában (36/247), az onko-hematológiai osztályon kezelt betegek mintáinak 31 %-ában (9/29) sikerült GBV-C/HGV vírust kimutatni. Mindkét vizsgált betegcsoport magasabb arányban hordozta a vírust az átlag, egészséges népességhez viszonyítva (8 %). Ezt a vizsgált betegcsoportok kezelésében gyakran előforduló invazív kezelésekkel (transzfúzió, transzplantáció, immunszuppresszív kezelések, stb.) magyaráztuk.
- 5.8.** A GBV-C/HGV RNS pozitív eredményű, ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek közül 9 esetben végeztünk további molekuláris vizsgálatokat (szekvencia-analízis), egy beteget pedig — ily módon — éveken át nyomonkövettünk. A nyomonkövetéses vizsgálat folyamán a beteg által hordozott vírus genomjának adott szakaszán egyáltalán nem tapasztaltunk változást az évek során.
- 5.9.** Az ismeretlen eredetű hepatitiszben szenvedő betegek mintáinak egy részében (51/247) a molekuláris vizsgálatokkal párhuzamosan a GBV-C/HGV vírus szeroprevalenciáját is meghatároztuk. Pozitivitást 39 %-uknál (20/51) találtunk, de a vírust és az ellene termelődött IgG típusú ellenanyagot egyidejűleg, egyetlen beteg vérében sem tudtuk kimutatni, mivel az ellenanyag megjelenése a vírus eliminációjával jár együtt.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Közlemények:

1. Takács M., Rusvai E., Brojnás J., Tóth G., **N. Szomor K.**, Tóth E., Szendrői A., Mezey I., Berencsi Gy. (2001): A hepatitis G és TT vírus diagnosztikájának bevezetése Magyarországon. *Lege Artis Medicine* 11, 274-282.
2. Takács M, **Szomor KN**, Szendroi A, Dencs A, Brojnás J, Rusvai E, Berencsi G (2002): Prevalence of GB virus C/hepatitis G virus in Hungary. *FEMS Immunol Med Microbiol* 34:283-7.
3. Takács M, Balog K, Tóth G, Balogh Z, **Szomor KN**, Brojnás J, Rusvai E, Minárovits J, Berencsi G (2003): TT virus in Hungary: sequence heterogeneity and mixed infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 35:153-7.
4. **Szomor KN**, Dencs A, Tóth G, Kovács GM, Saleh Ali Y, Berencsi G, Takács M (2007): Variability of the PreS1/PreS2/S regions of hepatitis B virus in Hungary. *Arch Virol* 152:697-704.
5. **Szomor KN**, Dencs A, Garai E, Rusvai E, Berencsi G, Takács M (2008): Mutation spectra of the surface-protein-coding region of the HBV genome in HBV-vaccinated and non-vaccinated individuals in Hungary. *Arch Virol* 153:1885-92.
6. Takács M, Dencs A, Csiszár C, Hettmann A, Rusvai E, **Szomor KN**, Pálfi V, Nagy B (2008): First description of swine Torque teno virus (TTV) and detection of a new genogroup in Hungary: short communication. *Acta Vet Hung* 56:547-53.
7. Dencs A, Hettmann A, **Szomor KN**, Kis Z, Takács M (2009): Prevalence and genotyping of group 3 torque teno viruses detected in health care workers in Hungary. *Virus genes* 39:39-45.

Könyvfejezet:

- **N. Szomor Katalin**, Dencs Ágnes, Kis Zoltán, Takács Mária: *Vírusgenom vizsgálatok a diagnosztikában*. Könyvfejezet az *Orvosi molekuláris virológia* (szerkesztette: Berencsi György, 2005.) c. könyvben.

Az értekezésben szereplő eredményeket az alábbi hazai és külföldi konferenciákon ismerttettem:

1. 14th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, Balatonfüred, Hungary, 9-11 October, 2003.
 - **Katalin N. Szomor**, Ágnes Dencs, Gábor Tóth, Younes Saleh-Ali, György Berencsi, Mária Takács: Variability in Hepatitis B Virus DNA in Different Regions of Hungary. (angol nyelven)
2. 3rd European Meeting on Molecular Diagnostics, Scheveningen, The Netherlands, 16-17. October 2003. (poster)
 - **Katalin N. Szomor**, Ágnes Dencs, Gábor Tóth, Younes Saleh-Ali, György Berencsi, Mária Takács: Variability in Hepatitis B Virus DNA in Different Regions of Hungary. (*Journal of Microbiological Methods* 55:507. 2003)
3. Magyar Molekuláris és Prediktív Epidemiológiai Társaság kongresszusa, Pécs, 2003. november 28-29.
 - **N. Szomor Katalin**, Dencs Ágnes, Tóth Gábor, Berencsi György, Takács Mária: A hepatitis B vírus DNS-ének variabilitása Magyarországon.
4. Third Croatian Congress of Microbiology with International Participation. Poreč, Croatia October 4-7. 2004.

- **Katalin N. Szomor**, Ágnes Dencs, Gábor Tóth, Gábor Kovács, Dániel Papp, Erzsébet Rusvai, György Berencsi, Mária Takács: Sequence analysis of hepatitis B viruses derived from Hungarian virus-carriers.
- 5. Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, 2004. október 07-09. Keszthely
 - **N. Szomor Katalin**, Papp Dániel, Dániel, Dencs Ágnes, Rusvai Erzsébet, Brojnás Judit, Takács Mária Aktív és passzív immunizálás ellenére HBsAg hordozóvá vált gyermekek hepatitis B vírusainak nukleotidsorrend-vizsgálata.
 - Rusvai Erzsébet, Szilágyi Emese, **N. Szomor Katalin**, Ferenczi Emőke, Brojnás Judit, Böröcz Karolina, Takács Mária, Mezey Ilona: A vérrel terjedő hepatitis vírusok előfordulási gyakorisága (prevalenciája) a magyar egészségügyi dolgozók között.
- 6. IUMS XIII. International Congress of Virology July 23-28, 2005. San Francisco, CA, USA (poster)
 - M. Takacs, **K.N. Szomor**, A. Dencs, G. Berencsi: Phylogenetic Analysis of Hepatitis B Sequences Derived from Hungarian Virus-carriers.
- 7. Magyar Orvosi Laboratóriumi Szakdolgozók Egyesületének IX. Nagygyűlése, Bük, 2005. szept. 29-30.
 - Kerékgyártóné Zalka Cecília, Nagyné Péntek Ilona, **N. Szomor Katalin**, Takács Mária: Vérrel terjedő hepatitisz vírusok diagnosztikája PCR módszerrel.
- 8. MedVetNet 2nd General Scientific Meeting, Malta, May 3-6, 2006.
 - Mária Takács, Ágnes Dencs, **Katalin N. Szomor**, György Berencsi: Prevalence and genotypes of Anelloviruses in Hungary.
- 9. 1st Central European Forum for Microbiology (CEFOM) and the Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary, October 26-28, 2005.
 - Mária Takács, **Katalin N. Szomor**, Ágnes Dencs, György Berencsi: Phylogenetic analysis of hepatitis B sequences derived from Hungarian virus-carriers. (*Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2005, 52. 159. Supplement)
- 10. Annual Meeting of the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, Hungary, October 18-20, 2006.
 - Ágnes Dencs, **Katalin N. Szomor**, Erzsébet Rusvai, Mária Takács: Analysis of hepatitis C genomes from haemodialysed patients. (*Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2006, 53. 3:261.)
 - Mária Takács, Ágnes Dencs, **Katalin N. Szomor**, György Berencsi: Prevalence and genotypes of anelloviruses in Hungary, (*Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2006, 53. 3:350.)
- 11. XIV. International Congress of Virology, Istanbul, Turkey, August 10-15, 2008
 - **N. Szomor K**, Dencs Á, Garai E, Rusvai E, Berencsi G, Takács M: Mutations on Surface Protein Coding Region of HBV in Hungary.
 - Dencs Á, **N. Szomor K.**, Hettmann A Takács M: prevalence and genotypes of SEN virus in Hungarian healthcare workers.
- 12. Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlése, Keszthely, 2008. október 15-17.
 - Dencs Á., **N. Szomor K.**, Hettmann A., Takács M.: A SEN vírus prevalenciája és genotípusai egészségügyi dolgozóknál Magyarországon. (*Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2009, 56 Suppl.:21)