

Astrovírusok genetikai jellemzése Mexikóvárosi külvárosi gyermekeinek hasmenéses mintáiból

PhD értekezés tézisei

Dr. Walter (Szánya) Jolán Eszter

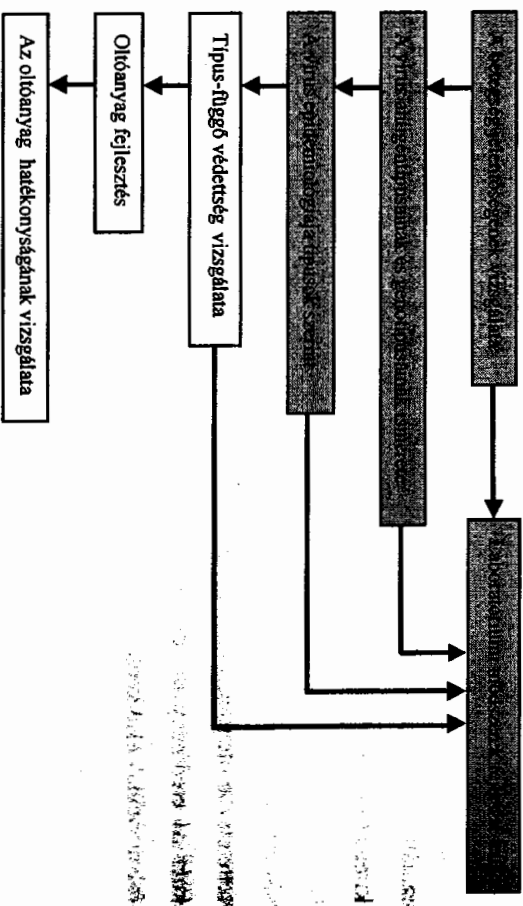
Programvezető: Prof. Dr. Kellermayer Miklós
Témavezető: Dr. Magyarlaci Tamás
További mentorok: Dr. Douglas K. Mitchell
Prof. Dr. Szűcs György

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar
Klinikai Kémiai Intézet

2002

Bevezetés

Évente közel két milliárd gyermeket érintenek a bélrendszer vírusos fertőzései és 18 millió fertőzött gyermek igényel kórházi ápolást. Minden évben a vírusos hasmenés és dehidráció közel 3 millió gyermek halálához vezet a világon. A négy legjelentősebb hasmenést okozó vírus közé tartozik a rotavírus, calicivírus, astrovírus és enterális adenovírus. Míg a rotavírus fertőzések gazdasági vonatkozása bizonyított és ellene több oltóanyag is kidolgozásra került, az astrovírusokkal kapcsolatos ismereteink hiányosak. Hasmenéses gyermekek között végzett tanulmányok alátámasztják az astrovírus orvosi jelentőségét, de a kimutatás érzékenységeinek növelése és további epidemiológiai ismeretek szükségessége a vírus klinikai és gazdasági szerepének megértéséhez. Ezen ismeretek birtokában eldönthető, hogy a betegség megelőzéséhez indokolt-e oltóanyag kidolgozása.



1. ábra. Sikeres oltási programhoz vezető ismeretanyag gyűjtésének folyamata

PhD tanulmányaim első évében megismerkedtem a molekuláris biológia módszereivel Dr. Nagy Eszter és Dr. Magyarlaci Tamás segítségével. Ezen ismeretek segítettek abban, hogy aktív tagja lehessen az Egyesült Államokban egy kutatócsoportnak, ahol Dr. Douglas K. Mitchell vezetésével intenzív astrovírus kutatás folyik. Laboratóriumi munkám főként az astrovírusok genetikai és antigén tulajdonságainak jellemzésére és a fertőzés kimutatására szolgáló genetikai és antigén kimutatási módszerek fejlesztésére koncentráltam. Dr. Berke Tamás révén a vírus szekvenciáinak elemzését, beleértve a filogenetikai módszereket, is elsajátítottam. Emellett több tanulmányban epidemiológiai és klinikai elemzéseket végeztem, amik az astrovírus okozta megbetegedés alaposabb megértését és a betegség gazdasági jelentőségének vizsgálatát szolgálják.

Dolgozatom első részében általános áttekintést adok az astrovírusokkal kapcsolatos ismeretekről, részletesen elemezve a vírus genetikai és antigén sajátosságait, kimutatásának fejlődését és epidemiológiáját. A második részben tárgyalom az astrovírus kimutatására szolgáló, genetikai módszereken alapuló vizsgálataimat. Ezeket a vizsgálatokat hasmennéves mexikói gyermekek mintáiból izolált astrovírusokon végeztem. A harmadik részben a mexikói tanulmány során kimutatott astrovírusok jellemzőit és epidemiológiáját tárgyalom, különös tekintettel két különleges izolátum genetikai karakterizálására: egy természetben előforduló, rekombináns humán astrovírus és egy gyermeket fertőző, de feltételezhetőleg nem-humán eredetű astrovírus részletes elemzésével. Ezen kutatási eredményeim a sikeres oltási programhoz vezető ismeretanyag gyűjtési folyamatainak első két lépését jelentik (1. ábra. szürke mezőben).

Bár dolgozatom egy mexikói gyermekek között végzett tanulmányon alapul, kutatási munkám során részt vettem astrovírusok jellemzésében a világ több tájáról, beleértve az Egyesült Államokat, Egyiptomot, Dél-Afrikai Kőztársaságot és Magyarországot (Prof. Dr. Szűcs Györggyel szoros együttműködésben).

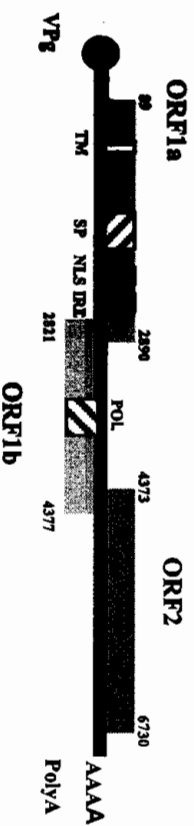
I. rész: Az astrovírusok kimutatása, általános jellemzői és epidemiológiája

1.1. Astrovírusokról általában

Az 1970-es években a technika fejlődésével sorra fedezték fel az enterális vírusokat. Elektronmikroszkópos felvételeken (EM) észlelt morfológiai sajátosságai alapján nevezték el a rotavírust (rota=kerek), calicivírust (calix=kehely) és később az astrovírusokat (astron=cillag). 1993-ban a vírus molekuláris szerkezeti elemzése alapján bebizonyosodott, hogy az astrovírusok önálló családot alkotnak (*Astroviridae*). Az eddig ismert astrovírusok embert, emlősöket és madarakat faj-specifikusan fertőznek. Míg az astrovírusok az emlősökben enyhé lefolyású gastroenteritist okoznak, addig a madarak esetén súlyos, több szervrendszeret érintő betegséggel jár a velük történt fertőzés. Különösen kis gyermekeket, immunkompromittáltakat és idős embereket betegít meg az astrovírus, de jelentős járványokat okozhat felnőttek között is zsúfolt környezetben (katonák), vagy szennyezett víz és étel útján (4000 személyt érintő járvány Japánban). A rotavírus és calicivírus után a leggyakoribb gastroenteritist okozó vírus, mely a vírusos gastroenteritisek 4-20%-át felelteti.

Az astrovírusok egyfonalú, pozitív-szájú RNS vírusok. A vírusgenom közel 6,8 kb. hosszúságú és három fehérjét kódoló régiót tartalmaz (ORF: open reading frame) (2. ábra). Az ORF1a és ORF1b régiók konzervatívak és a vírus szaporodásához szükséges enzimeket kódolják: a szerin-proteáz (SP) és az RNS-flügő RNS polimeráz (POL). Az ORF1a és ORF1b határan egy RNS hurrok található polyA tartalmú heptamer struktúrával. Ezen riboszómális "famshift" szignál (Ω) révén a riboszóma egyszerre tudja lefordítani a két enzimet kódoló régiót közös poliproteinné, ami később tovább hasad. E különleges struktúra és a SP jelenléte egyértelműen megkülönbözteti az astrovírusokat a többi "kis kerek"

RNS vírusoktól. Az ORF1a régió emellett a transzmembrán hélixeket (TM), a nukleáris lokalizációs szignált (NLS) és egy immunogén régiót (IRE) tartalmaz és feltételezik, hogy egy genomhoz kötődő fehérjét (VPg) kódol. A vírus burkát képező fehérjéket az ORF2 régió kódolja, ami variábilis, különösen a 3' végén.



2. ábra. Humán astrovírus-genom szerkezete

1.2. Astrovírusok kimutatásának módszerei

Először a vírus kimutatása EM felvételeken látható morfológiai sajátosságain alapul, ugyan a jellegzetes csillagszerű felszíni struktúrája csak az esetek 10%-ban figyelhető meg. Napjainkban a rutin diagnosztikai vizsgálatokban már nem alkalmazzuk ezt a kissé körülményes és alacsony érzékenyséű, ugyanakkor drága módszert.

Nagyszámú minta tesztelésére alkalmasak a molekuláris módszereken alapuló vizsgálatok. A vírus detektálására az "enzyme-immunoassay" (EIA) immunológiai módszert fejlesztették ki. A teszt lényege, hogy egy astrovírus-specifikus monoklonális ellenanyag megkötí a vírus partikulumokat és astrovírus elleni poli-klonális savó enzimatikus reakción keresztül kimutatja a vírus jelenlétét. A módszer széles körű alkalmazását elősegíti az, hogy a reagensok a kereskedelemben is

beszerezhetők. Kezdetben magas érzékenyséűnek és specifikusnak mutatkozott ez a módszer. Két jelen tanulmányunkban azonban érzékenysége jóval alacsonyabb volt egyéb elérhető genetikai vizsgálati módszereknel.

A vírus genetikai anyagának ismeretében specifikus primereket terveztek, ami elősegítette a reverz-transzkripció polimeráz-láncreakció (RT-PCR) alkalmazását a vírus kimutatásában. Az astrovírusok típusainak együttes kimutatására a legalkalmasabbak a konzervatív ORF1a, ORF1b régiók és a genom nem-kódoló 3' vége. A típusok elkülönítése a kapszidot kódoló ORF2 variábilis régióban lehetséges. Ez a rendkívül érzékeny módszer munkaigényesebb és költségesebb, mint az EIA, így ezideig nagy mintaszámú epidemiológiai tanulmányokban ritkán alkalmazták.

1.3. Astrovírus típusok

Jelentős mérföldkövet jelentett az astrovírusok megismerésében a vírus sikeres tenyésztése laboratóriumi körülmények között. Mindez lehetővé tette poliklonális ellenanyagok termelését és ezen keresztül öt antigén típus megkülönböztetését. Jelenleg nyolc antigén típusát ismerjük a humán astrovírusoknak. Hét antigén típusról bizonyított, hogy különböző szerotípust jelentenek, mivel neutralizációs tesztben kizárólag a homotípusos ellenanyagok gátolják ezen vírusok növekedését.

Szekvencia elemzések alapján a humán astrovírusokat nyolc genotípusba soroljuk. Belliot tanulmánya szerint a genom több régiójában végezhető szekvenciánkon alapuló tipizálás és azonos típusú izolátumok egy csoportot alkotnak az elemzések során. Ellentétben ezzel, mi feltételezzük, hogy csak a kapszidot kódoló genetikai régióban történhet genotípusizálás, mert a többi régióból nyert eredmények ellentmondások lehetnek, többek között a rekombináció lehetősége miatt.

1.4. Típus meghatározási módszerek

A típusok meghatározására kifejlesztett EIA eredményei egybehangzónak mutatkoznak a genotipizálással szekvencia analízis alapján. Bár kevésbé elterjedt, de genotipizálás történhet típus-specifikus primerrel segítségével is. Mivel a EIA reagensek nem minden laboratórium számára elérhetőek, a genotipizálás kedvező alternatívát jelenthet a vírus típusok elkülönítésében.

1.5. Humán astrovírusok epidemiológiája

Az astrovírus fertőzés világszerte gyakori mind sporadikus, mind járványos és nozokomialis fertőzés formájában. Az astrovírusok a sporadikus eredetű virális hasmenések 4-17%-át okozzák. A leggyakoribb az 1-es szerotípus, de újabb tanulmányok már a többi szerotípust is kimutatták egyre növekvő gyakorisággal. Korai vírus-expozíciót jelez, hogy az 1-es és 2-es szerotípus ellenanyagai két éves korra a gyermekek 90-100%-ban előfordulnak. Mivel az astrovírusok főként gyermekekben, immunokompromitált betegekben és idősekben okoznak súlyosabb tüneteket, feltehető, hogy az ellenanyagok szintje és az immunválasszadó képesség csökken az öregedéssel. Fiatal felnőttek között is okozhat az astrovírus járványokat, azonban megfigyelhető, hogy ezen jelentősebb járványokat a ritka szerotípusok okozzák (3-as, 5-ös, 6-os). Mindez azt sugallja, hogy a heterológ ellenanyagok jelenléte nem jelent teljes védekezést a betegség kialakulásában. Az astrovírus szezonálitása virarott és valószínűleg földrajzi területenként változik. Érdekes az a megfigyelés, hogy egymást követő években az astrovírus típusok dominanciája változik: az 1-es szerotípus okozta fertőzések időszakát váltja a többi típus együttes domináns jelenléte, majd ismét az 1-es szerotípusban gazdag év következik.

II. rész: A genetikai módszereken alapuló astrovírus-kimutatásban elért eredményeink

2.1. Bevezetés

Nagy mintaszámú epidemiológiai tanulmányban ritkán alkalmazzák az RT-PCR-t és ezért kevés ismeretünk van arról, hogy milyen érzékeny és specifikus ez a módszer EIA-vel összehasonlítva. A fertőzést okozó astrovírusok típusainak megállapítására több módszer alkalmazható: tipizáló EIA, típus-specifikus RT-PCR és szekvencia analízis. Mivel a tipizáló EIA reagensei széles körben nem elérhetőek, típus-specifikus primerrel tervezett általános használatra. A dolgozatomban részletezett prospektív tanulmány lehetőségét nyújtott az astrovírus kimutatására és tipizálására szolgáló módszerek közvetlen összehasonlítására.

2.2. Anyag és módszer

Mexikóvárosi külvárosi negyedében 1988. november 1. és 1991. decembere között gyermekek hasmenését monitorizálták prospektív módon a születéstől 18 hónapos korig. A hasmenéses időszakban gyűjtött székletmintákban (N=366) vizsgáltuk az astrovírus jelenlétét mind EIA, mind RT-PCR módszerrel. Az RT-PCR-ban az ORF1a igen konzervatív régióját amplicifikálva, már leírt primerrel használtunk (Mon348/Mon340). Vizsgálatainkat kiterjesztettük a hasmenéses időszak előtti és az azt követő hét napra is (kiterjesztett hasmenéses időszak). A kimutatott astrovírusok típusát tipizáló EIA (1-5 szerotípusra kifejlesztett), tipizáló RT-PCR és szekvencia analízis segítségével határoztuk meg. A tipizáló RT-PCR-hoz primerrel tervezettünk, amik a kapszidot kódoló ORF2 variábilis régióhoz kötődtek. A kapszid régióban nyert RT-PCR termékeket szekvenáltuk.

2.3. Eredmények

Astrovírus kimutatható volt a hasmenéses időszakok 7%-ában. RT-PCR-hoz viszonyítva az EIA érzékenysége 76%, specificitása 100% volt. Az RT-PCR tipizálás eredményei összehangban voltak a tipizáló EIA eredményeivel. Tipizáló RT-PCR jelenősen több astrovirusnak határozta meg a típusát, mint az tipizáló EIA. ($p < 0,05$) A szignifikancia értéke nem változott, mikor a két módszert az 1-5 szerotípus esetén hasonlítottuk össze.

	RT-PCR+	RT-PCR-	Összesen
EIA+	18	0	18
EIA-	6	342	348
Összesen	24	342	366

II-1. táblázat: Astrovírus kimutatás eredményei EIA és RT-PCR módszerekkel "kiterjesztett hasmenéses időszak" mintáiból.

N	T1	T2	T3	T4	T5	T7	NT ^a	
Tipizáló EIA	31	1	9	3	4	1	0	13
Tipizáló RT-PCR	31	3	10	3	6	2	2	5
Szekvencia analízis	31	3	13	4	7	2	2	0

II-2. táblázat: Astrovírus tipizálás eredményei tipizáló EIA és RT-PCR és szekvencia analízis módszerekkel széklet mintákból (N=24) és szövetkultúrákból (N=7)
NT^a—nem tipizálható; ^a típusa nem állapítható meg az adott módszerrel

III. rész: Astrovírusok genetikai jellemzése és epidemiológiája

3.1. Humán astrovírus molekuláris epidemiológiája sporadikus hasmenésben gyermekek között

3.1.1. Bevezetés

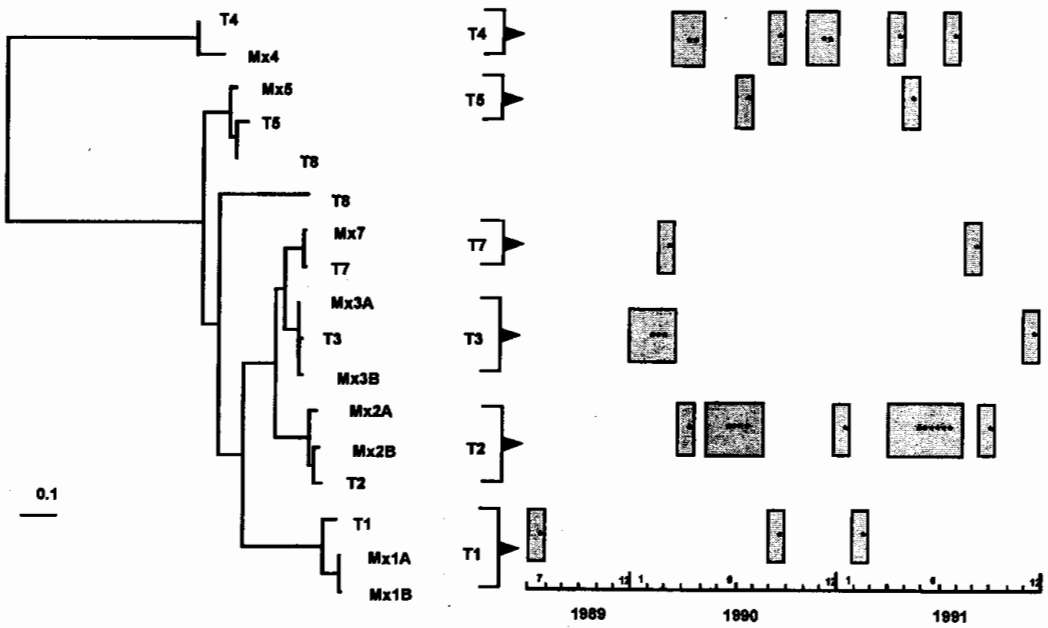
A legtöbb tanulmányban a jelenleg ismert nyolc astrovírus szerotípus közül az 1-es szerotípus dominanciáját észlelték, ami ellen két éves kor felett a gyermekek közel 100%-a ellenanyaggal rendelkezik (Hollandia, Japán, Egyesült Államok).

3.1.2. Anyag és módszer

A 2.1. fejezetben leírt tanulmány során nyert astrovírus szekvenciákat (N=31) egymással és a referens törzsek szekvenciáival hasonlítottuk össze. (ORF2, 3' vég) Az izolátumok evolúciós kapcsolattendzerét "maximum likelihood" filogenetikai módszerrel rekonstruáltuk. Az analízis 9 mexikói szekvenciát tartalmazott, amelyek képviselték a többi izolátum 99-100%-ban azonos szekvenciáit. A szubtípus a referencia törzstől $>0,05$ távolságra lévő csoportot jelenti.

3.1.3. Eredmények

A filogenetikai fán az izolátumok szignifikánsan elkülönültek (3. ábra). Az analízis hat különböző genotípus (1-5, 7) folyamatos és együttes jelenlétét mutatta ki a tanulmány három éve során. A genetikai távolságok alapján minden mexikói izolátum új szubtípust jelentett (Kivéve a 7-es genotípust). A 2-es genotípus (42%) után a 4-es volt a leggyakoribb (23%). Ritka volt az 1-es, 5-ös és 7-es genotípus.



3. ábra Maximum likelihood filogram a referencia törzsek (T1-8) és a mexikói izolátumok szekvenciáinak analízise alapján. (363 bp) Az elágazási pontok szignifikánsak. ($P < 0.05$) Jobb oldalon látható a típusok előfordulási gyakorisága a tanulmány ideje alatt. Az izolátumok számát csillagok jelzik a szürke mezőben. Mx: Mexikói izolátumok szubtypusai

12

3.2. Különböző típusú rekombináns astrovírusok

3.2.1. Bevezetés

A rekombináció gyakori RNS vírusok esetén a polimeráz enzim természetéből fakadóan és valószínűleg különböző típusú vírusok együttes fertőzésekor történik. Bár természetben előforduló rekombináns calici-, és picornavírusokat már kimutattak, az astrovírusok esetén ilyen felfedezés még nem történt. A leggyakoribb rekombinációs pont a szubgenomikus promotemél van, amely igen konzervatív és gyakran RNS hurkokban gazdag régió.

3.2.2. Anyag és módszer

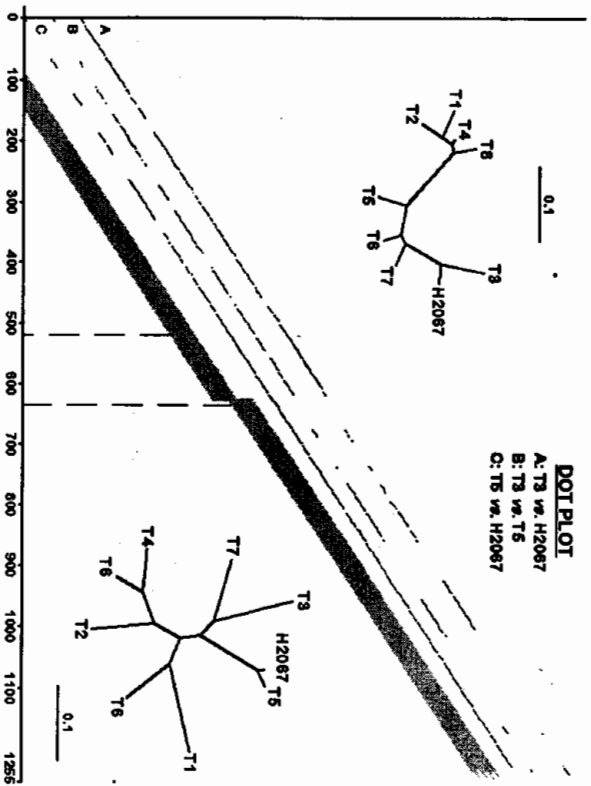
Nagy hasonlóságot észleltünk, amikor a 2.1. fejezetben leírt tanulmány során nyert 5-ös típusú astrovírus szekvenciákat (Kapszid) összehasonlítottuk egy houstoni tanulmány azonos típusaival. Mivel ez utóbbiak esetében különböző régióbeli nyert szekvenciák alapján meghatározott genotípus nem egyezett, további vizsgálatokat kezdtünk a vírusok genetikai állományának vizsgálatára.

3.2.3. Eredmények

Négy vírust találtunk hasonlóságot gyermekek mintáiban, amelyek a kapszid régióban 5-ös genotípusokhoz tartoztak, míg az ORF1b régióban a legközelebb a 3-as referencia törzshöz álltak. A feltételezett rekombinációs pontot magába foglaló közel 1200 bp régiót szekvenáltunk két izolátum esetén (ORF1b/ORF2 határa). A genotípus-váltást jól szemlélteti a különleges típus és az 5-ös illetve 3-as genotípus összehasonlítására szolgáló "dot plot" diagram (4. ábra). A filogenetikai analízis a

13

feltételezett rekombinációs pont előtti és utáni régióban alátámasztotta a megfigyelést. A típusváltás feltételezett helye megfelel a szubgenikus RNS promotor régiójának, igen konzervatív különböző genotípusok között is. Kimutattuk, hogy rendelkezik olyan RNS hajlú struktúrával, amely hajlamosít a rekombinációra.



4. ábra Különböleges astrovírus (H2067) és az 5-ös illetve 3-as genotípus összehasonlító szekvencia analízise az ORF1b-ORF2 átmeneti régióban (1255 bp, x tengely). Az átmeneti régiót két részre osztottuk, kihagyva a közbelső konzervatív részt (52 nt). A két régió filogenetikai analízise (maximum likelihood) a bal felső illetve jobb alsó sarokban látható. Szaggatott vonal jelzi a feltételezett rekombinációs régiót (120 bp). A különböző astrovírus (H2067) és az 5-ös illetve 3-as genotípus közötti hasonlóságot az átlósan futó "dot plot" diagram jellemzi. A vonal folytonossága nagy hasonlóságot jelez.

3.3. Különböleges astrovírus II. – Ismeretlen eredetű vírus

3.3.1. Bevezetés

Új, nagy érzékenységu módszerek új utat nyithatnak egy vírus megismerésében. Néha azonban a véletlen folytán kerülnek felfedezésre vírusok. Komplex genetikai analízisek segíthetnek abba, hogy az ismeretlen izolátumot egy már meglevő rendszerbe helyeztünk.

A 2.1. fejezetben leírt tanulmány során az RT-PCR termékek között feltűnt egy amplikon, amely nagyobb méretu (438 bp) volt a vártnál (289 bp). Ugyan negatívnak értékeltük a mintát, kíváncsiságból azonban megvizsgáltuk a szekvenciáját. A GenBank adatbázis BLAST keresó programja astrovírusokhoz közelállónak tartotta a kapott szekvenciát.

3.3.2. Anyag és módszer

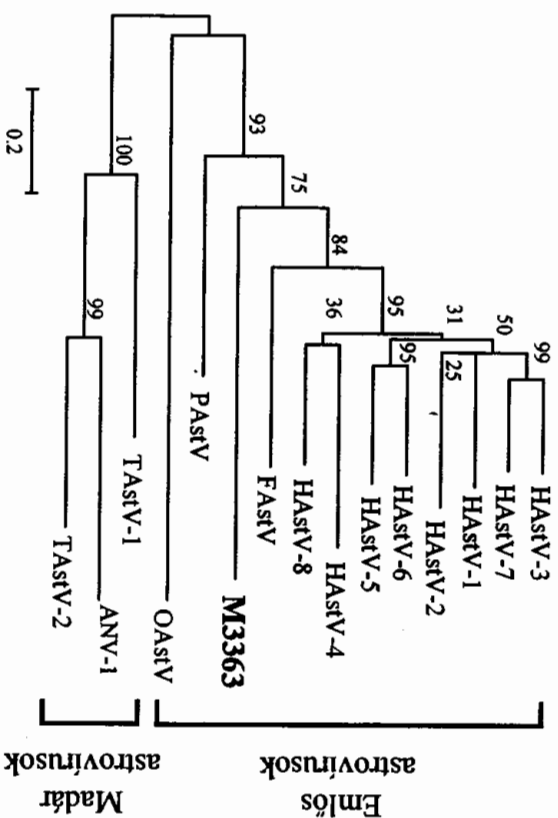
További genetikai információra volt szükség. Az ismert szekvencia alapján belső primerket terveztünk, és oligoT-vel kombinálva tovább próbáltuk amplifikálni a genomot. Hasonló módon állati és emberi szekvenciák alapján család specifikus primerket terveztünk. A nyert amplikonokat szekvenáltam és összehasonlító elemzéseket végeztünk a GenBank adataival és filogenetikai módszerek segítségével.

A vírus kimutatására alkalmaztuk az EIA és EM módszereket, illetve szövettenyésztéssel próbálkoztunk.

3.3.3. Eredmények

A vírus (M33363) egy nyolc hónapos csecsemó hasmeneses székletéből származott. A partikulumok morfológiája és mérete astrovírusokra emlékeztetett az EM felvételeken. A humán astrovírusok kimutatására alkalmas EIA a vírust nem

mutatta ki. Az ORF1a régióban 959 bp, a genom 3' végén 1337 bp hosszúságú régiót sikerült szekvenálni. Mindkét szekvencia esetén a BLAST az astrovírusokat (humán és emlős) találta a legközelebbinek, bár a hasonlóság még a konzervatívabb ORF1a régióban is nagyon alacsony volt (43-44%). M3363-t mindkét régióban végzett filogenetikai analízis az emlősök csoportjába helyezte, a humán csoporttól elkülönítve. (5. ábra – ORF2) Az ORF1a régióból származó szekvenciában fellelhetőek a humán és állati astrovírusokra jellemző motívumok, beleértve a szerin-proteáz katalitikus triádjának tagjait, a proteolitikus hasítási helyeket és a nukleáris lokalizációs szignált.



5. ábra "Neighbor-joining filogram" (K2P model, bootstrap 1000-szer) ORF2 régióban (843 nt). Az analízis tartalmazza M3363-et, nyolc humán astrovírus referencia törzset (HAstV-1-től 8-ig) és az állati astrovírusokat: macska (FAstV), sertés (PAstV), bárány (OAsTV) és pulyka astrovírusok: TAsTV-1 and 2, illetve az avian nephritis vírust (ANV-1). A bootstrap értékek az elágazásokban láthatók.

IV. rész: Új eredmények

1. Az astrovírus kimutatás módszereiben:

- Nagyszámú mintát feldolgozó tanulmányokban az RT-PCR sikeresen alkalmazható, mert érzékenyebb és azonos specifitású, mint a széles körben elérhető EIA.

- A tipizáló RT-PCR primerei alkalmasak típus meghatározásra. Eredményei alátámasztják a tipizáló EIA eredményeit, és szignifikánsan több astrovírus esetén tudják a típust meghatározni. Ez a módszer jó alternatívája a tipizáló EIA-nak olyan laboratóriumokban, ahol az EIA reagensei nem elérhetőek. További előnye, hogy gyors, érzékeny és költségekben közel azonos.

- Az eredmények végleges megerősítésére alkalmas a szekvencia analízis, ami egyben a vírusok evolúciós kapcsolatának további vizsgálatát is lehetővé teszi.

2. Az astrovírusok genetikai jellemzésében és epidemiológiájában:

- Számos astrovírus típus együttesen lehet jelen egy közösségben.
- A leggyakoribb típus nem mindig az 1-es szerotípus (jelen tanulmányban a 2-es szerotípus volt, amit a 4-es szerotípus követett).
- A fertőző astrovírusok eloszlásának pontos ismeretét nagyméretűben befolyásolhatja a vizsgálati időszak, a földrajzi hely és az alkalmazott módszer. Javasoljuk az RT-PCR alkalmazását, ami remélhetőleg közelebb visz a valós eloszlás ismeretéhez.
- Az astrovírusok rekombinációra képesek természetes körülmények között.
- A kimutatott rekombináns vírus virulens, tartósan jelen volt és széles körben elterjedt.

- A genom különböző részein végzett genotipizálás ellentmondásos eredményre vezethet. Ezért javasoljuk, hogy a molekuláris tipizálás korlátozódjon a kapszid régióra (ORF2).
- RT-PCR segítségével kimutattunk egy különleges astrovirust egy gyermek hasmenéses székletéből, ami egy új humán típus, vagy egy feltételezhetően emlős eredetű astrovirus.

Összefoglalásként: a prospektív mexikói tanulmány RT-PCR és szekvencia analízis révén az EIA-nál bővebb információt szolgáltatott az astrovirusok epidemiológiájáról, beleértve több humán típus kimutatását és új entitások felismerését: egy rekombináns astrovirust és egy eddig ismeretlen astrovirust, aminek az eredete nem teljesen tisztázott. Ezen ismeretek hozzájárulhatnak az vírus természetének alaposabb megismeréséhez és a fertőzés elleni küzdelemhez, beleértve a sikeres megelőzési stratégiák kialakítását.

Irodalomjegyzék

Az értekezés tárgykörében megjelent publikációk és absztraktok jegyzéke

Publikációk:

1. Walter JE, Mitchell DK. The role of astroviruses in childhood diarrhea. *Current Opinion in Pediatrics*, 2000; 12(3): 275-209.
2. Walter JE, Mitchell DK, Guerrero ML, Berke T, Matson DO, Monroe SS, Pickering LK, Ruiz-Palacios G. Molecular epidemiology of human astrovirus among children from a periurban community of Mexico City. *The Journal of Infectious Diseases*, 2000; 183(5): 681-686. **IF:4,988**
3. Taylor MB, Walter JE, Berke T, Cubitt DW, Mitchell DK, Matson DO. Characterisation of a South African human astrovirus as type 8 by antigenic and genetic analyses. *Journal of Medical Virology*, 2001; 64(3): 256-261. **IF:3,289**
4. Walter JE, Briggs J, Guerrero ML, Matson DO, Pickering LK, Ruiz-Palacios G, Berke T, Mitchell DK. Molecular characterization of a novel recombinant strain of human astrovirus associated with gastroenteritis in children. *Archives of Virology*, 2001; 146(12): 2357-2367. **IF:1,705**
5. Jakab F, Walter JE, Szűcs Gy. A human astrovirusok jelentősége gyermekkori gastroenteritisekben. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2001; 7(3): 118-122.

Absztraktok:

1. Walter JE, Mitchell DK, Guerrero ML, Berke T, Matson DO, Monroe SS, Pickering LK, Ruiz-Palacios G. Community-Based Assessment of Human Astrovirus-Associated Gastroenteritis in Children from a Periurban Area in Mexico City by RT-PCR. Poster, *Pediatric Academic Society Annual Meeting*; May 1-4, 1999, San Francisco, CA, USA

2. Walter JE, Briggs J, Guerrero ML, Matson DO, Pickering LK, Ruiz-Palacios G, Berke T, Mitchell DK. Sequence Analysis of Human Astrovirus ORF1a and ORF2 Genomic Regions Revealed Novel Strains Associated with Gastroenteritis in Children. Platform Presentation, American Society of Virology Annual Meeting; July 10-14, 1999, Amherst, MA, USA
3. Walter JE, Mitchell DK, Berke T, Jiang X, Matson DO, Ruiz-Palacios G, Pickering LK. Characterization of a Novel Astrovirus Isolated from a Symptomatic Child. Platform Presentation. American Society of Virology Annual Meeting; July 8-12, 2000, Fort Collins, CO, USA
4. Berke T, Walter JE, Briggs J, Guerrero ML, Pickering LK, Ruiz-Palacios G, Matson DO, Mitchell DK. Molecular Characterization And Comparative Molecular Sequence Analysis Of The First Human Astrovirus Recombinant Strain. Poster. 6th International Symposium on Positive Strand RNA Viruses; May 28- June 2, 2001, Paris, France
5. Jakab F, Walter JE, Parada Ricart E, Berke T, Matson DO, Staat M, Azimi P, Mitchell DK. Hospital-Based Assessment Of Serious Human Astrovirus infections in the United States. Platform presentation. Fifth Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, Sept 2-5, 2001, Lahti, Finland
6. Walter JE, Matson DO, Berke T, Mitchell DK. Reclassification of the family *Astroviridae* based on comparative phylogenetic analysis of capsid genes. Platform presentation. Seventh European Workshop on Virus Evolution and Molecular Epidemiology, Sept 5 -12 2001, Leuven, Belgium
7. Jakab F, Walter JE, Berke T, Matson DO, Szucs Gy, Mitchell DK. Characterization and molecular sequence analysis of human astroviruses among hospitalized children in Hungary. Platform presentation. Annual Meeting of the Hungarian Society of Microbiology, October 10-12, 2001, Balatonfüred
8. Taylor MB, Nadan S, Grabow WOK, Walter JE. Molecular epidemiology of human astroviruses from the Tshwane area (Pretoria), Gauteng. Oral presentation. Joint Congress for Infectious Diseases and STD December 3-6, 2001, Stellenbosch, South Africa
10. Walter JE, Snyder Q, Jakab F, Wierzbza T, Matson DO, Mitchell DK. Detection and genetic characterization of the human astrovirus among children treated for diarrhea at two hospitals in Egypt. Platform presentation, 2002 Southern Regional Meeting of Southern Society for Pediatric Research, February 21-23, 2002, New Orleans, LA, USA
11. Walter JE, Jakab F, Parada E, Afflerbach C, Staat M, Azimi P, Berke T, Matson DO, Mitchell DK. Comparative analysis of infection caused by human astrovirus types among children hospitalized in the United States. Poster presentation. Pediatric Academic Society Annual Meeting; May 4-7, 2002, Baltimore, MD, USA
12. DK Mitchell, JE Walter, F Jakab, C Afflerbach, B Austin, Q Snyder, L Lawson, T Wierzbza, S Fouad, IAA Messih, M Staat, P Azimi, DO Matson. Astrovirus detection by EIA and RT-PCR, Platform presentation. Annual Meeting of American Society of Virology, July 20-24, 2002, Lexington, KY, USA
13. Parada E, Walter JE, Jakab F, Afflerbach C, Jiang X, Staat M, Azimi P, Berke T, Mitchell DK, Matson DO. Comparison of clinical features of enteric viral infections among hospitalized children in the USA. Platform presentation. International Congress of Virology; July 27-August 1, 2002, Paris, France

14. Walter JE, Mitchell DK, Berke T, Jiang X, Matson DO, Ruiz-Palacios G, Pickering LK. Characterization of a novel astrovirus isolated from a symptomatic child. Poster presentation. International Congress of Virology; July 27-August 1, 2002, Paris, France
15. Jakab F, Walter JE, Berke T, Matson DO, Szucs Gy, Mitchell DK. Characterization and molecular sequence analysis of human astroviruses among hospitalized children in Hungary. Platform presentation. Eighth European Workshop on Virus Evolution and Molecular Epidemiology, Sept 4-11 2002, Leuven, Belgium

Egyéb publikációk jegyzéke

1. Szánvya JE, Székely P, Magyarlaki T, Balogh Z, Nagy J, Kalmár Nagy K. Predictive morphological findings in "0 hour" biopsies of renal allografts. *Acta Chirurgica Hungarica*, 1997;36(1-4): 346-348.

Egyéb előadások jegyzéke

1. Parada E, Berke T, Jiang J, Walter JE, Jakab F, Szart M, Azimi P, Matson DO. Human calicivirus infections in hospitalized children with gastroenteritis: a challenge to virus detection methods. Poster. 39th Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America, October 25-28, 2001, San Francisco, CA

Kumulatív impakt factor: 9,982