

**A humán astrovírusok jellemzői és szerepük a hazai gasztroenterális fertőzésekben – klinikai, molekuláris epidemiológiai és filogenetikai vizsgálatok**

Ph.D. tézis

Jakab Ferenc

**Programvezető:** Prof. Dr. Emőd Levente  
(Bakteriális fertőzések molekuláris pathogenezeise)

**Témavezető:** Dr. Szűcs György  
(Virális gasztroenteritiszek járványtani vizsgálata)

Pécsi Tudományegyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet

2005

## Bevezetés

1975-ben Madeley és Cosgrove egy angliai – csecsemőket érintő - gastroenteritisz járványból gyűjtött székletmintákban egy új gastroenterális vírust figyeltek meg és írtak le. Az elektronmikroszkópos képen látható csillagszerű struktúrájuk alapján e kis kerek vírusokat astrovírusoknak nevezték el (astro=csillag). Ezzel a felfedezéssel kezdődött a közel negyedszázados kutatás, ami alapján a humán astrovírust (HAstV) ma a négy legfontosabb virális hasmenést okozó ágens között említhetjük (a rotavírus, calicivírus és enterális adenovírus mellett). A vírus megismerésében jelentős lépés volt a 80-as évek elején a vírusok sikeres tenyésztése sejtkultúrában és szintén ezekben az években Herrmann és munkatársai sikeresen adaptálták egy ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) vizsgálatot a vírus gyors kimutatására. A virális nukleinsav teljes szekvenciájának ismeretével nagymértékben fejlődött a vírus molekuláris szerkezetének analízise is és a genetikai elemzések alapján Jiang és munkatársai bebizonyították, hogy az astrovírusok önálló családot (*Astroviridae*) alkotnak. 1995-ben Jonassen és munkatársai kifejlesztettek egy reverz transzkripció-polimeráz láncreakción (RT-PCR) alapuló módszert, amivel hatékonyan tudták kimutatni az astrovírusok jelenleg is ismert nyolc különböző humán szerotípusát. Az astrovírus fertőzések epidemiológiájának megismerésében jelentős fordulatot hozott, amikor 1991-ben Japánban több mint 4700 személyt, iskolásokat és tanáraikat egyaránt érintő hasmenéses járványban humán astrovírust tudtak kimutatni, 1997-ben pedig francia kiskatonák közötti hasmenéses járványban bizonyították a szerepét. Ez alátámasztotta azt a feltételezést, hogy nemcsak gyermekeket fertőzhet meg a vírus.

A humán astrovírusok hozzávetőlegesen 28-30 nm átmérőjű, ikozahedrális szimmetriájú, gömb alakú, burok nélküli partikulumok, öt- vagy hatágú csillaghoz hasonló felszíni struktúrával. E legjellemzőbb morfológiai tulajdonságuk csupán a vírusok kb. 10%-ában figyelhető meg. Fizikai tulajdonságai közül kiemelkedő, hogy aktivitását még 60 C°-on is 5-10 percig megőrzi, és nagyon alacsony hőmérsékleten (-70, -85 C°-on) akár 6-10 évig is fertőzőképes maradhat. A vírus ezen tulajdonsága lehetővé teszi, hogy szobahőmérsékleten is könnyen terjedjen. A vírus stabilitását még rendkívül savas környezetben (pH 3,0) is megőrzi; emellett kloroform, különböző detergensok és lipid-oldószerek hatásával szemben is meglehetősen ellenálló.

A vírusgenom körülbelül 6800 nukleotid hosszúságú, egyfonalú, pozitív-szálú RNS, mely egy poly-A farokkal rendelkezik a genom 3' végén. A genomban három fehérje kódoló régiót (open reading frame: ORF) különböztetünk meg. Az 5' véghez közelebb álló, ORF1a és

ORF1b a vírus szaporodásához nélkülözhetetlen nem strukturális fehérjét: proteázt (Pro) és polimerázt (Pol), míg a 3' végnél lévő ORF2 régió a virion kapszidját felépítő három fő strukturális fehérjét kódolja. Ezek egyenként körülbelül 35, 29 és 26 kDa molekulatömegűek és a kapszid prekursor-fehérje hasítása során keletkeznek. Található még egy, genomon kívüli (subgenom) RNS is, ami körülbelül 2400 nukleotid hosszúságú és a genom kapszid-régiójával azonos. Fertőzéskor a sejtben mind a teljes genom, mind pedig a subgenom RNS replikálódik.

Az astrovírusok világszerte elterjedtek, és szórványos, valamint járványos gastroenteritist egyaránt okoznak, főleg kórházban ápolt csecsemőkben, bölcsődés gyermekek körében és bizonyos esetekben felnőttekben, idősekben és immunosuppresszált betegekben váltanak ki klinikai tüneteket. A jelenleg ismert 8 HAstV szerotípus közül eddig az 1-es típus dominanciáját észlelték. Három távolálló földrajzi régió adatai alapján (Amerikai Egyesült Államok, Japán, Hollandia) is egyértelműnek látszik, hogy a fejlett országokban a leggyakoribb, domináns szerotípus az 1-es, ami ellen már a két éves korosztálynak is közel 100%-a ellenanyagokkal rendelkezik. A 8-as szerotípusú HAstV epidemiológiai szerepéről még keveset tudunk, de a folyamatos vizsgálatok azt mutatják, hogy az eddigi megítéléssel ellentétben epidemiológiai jelentősége nő mind a fejlett, mind a fejlődő országokban egyaránt. A HAstV fertőzés direkt bizonyítékát jelentő székletvizsgálatok alapján tudjuk, hogy a fejlődő országokban a HAstV-1 kevésbé domináns és több szerotípus is jelen lehet egyszerre a populációban. Emellett különböző HAstV szerotípusok egyidejű fertőzése is előfordulhat. Mindez lehetőséget ad a vírusok genetikai állományának rekombinálódására. A világ különböző országaiban végzett vizsgálatok alapján a HAstV-ok a sporadikus virális eredetű hasmenéseknek 4-20%-át okozzák. Kínában a vírusos hasmenéses esetek 8%-ában volt kimutatható a második leggyakoribb ágensként a rotavírus után. Hasonló százalékban volt jelen Thaiföldön, ahol a megbetegedések 8,6%-át, Guatemalában 7,6%-át, Finnországban 9%-át, és Franciaországban 6 %-át okozta. Igen magas százalékban volt kimutatható a vírus Chilében, ahol a gastroenteritisz súlyos következményei miatt sürgősségi ellátásban részesült gyermekek székletmintáinak 15%-ában, a kórházi ellátásra szorultak székleteinek pedig mintegy 20%-ában volt humán astrovírus. Az Amerikai Egyesült Államokban végzett tanulmány szerint, az óvodások körében előforduló járványok 4-6%-áért az astrovírus volt felelős. Magas kockázatú csoportot alkotnak a kisgyermekek mellett az immunosuppresszáltak és idősek is. Humán immunodeficiencia vírussal (HIV) fertőzött felnőttekben a virális hasmenéses esetek nagy részéért a HAstV-t teszik felelőssé. HIV fertőzött gyermekek között a HAstV gyakrabban fordult elő, mint a nem fertőzöttekben, de a HAstV növekvő jelenléte nem eredményezett több, vagy súlyosabb hasmenést. Csontvelő-transzplantáción átesett betegekben a „graft-versus-host” reakció mellett

enterális vírusok, és az astrovírus is okozhatnak súlyos hasmenést az esetek 13%-ában. Angliában csontvelő-transzplantáción átesett gyermekek között a HAstV hónapokig tartó járványt okozott. Több esetben írtak már le egyidejű fertőzést humán calicivírusokkal és rotavírusokkal is. A vírus szezonálisága még vitatott. Néhány tanulmány szerint a téli hónapokban magasabb a fertőzöttség aránya, mint az év többi részében.

A humán astrovírusok a rotavírus fertőzéshez hasonló, de jóval enyhébb tüneteket okoznak. Leggyakrabban heveny hasmenéssel társul a fertőzés (72-100%), mely általában két-három napig tart, de akár 21 napig is elhúzódhat, naponta átlagosan négyszeri (1-10) székletürítéssel. További jellemző tünetek még az émelygés, hányinger, hányás, mely az esetek 20-62%-ában van jelen, 1-4 napig tart, naponta átlagosan 1-2 alkalommal ismétlődve. A fertőzések 7-25%-a jár együtt kb. 37-41 C°-os lázzal. Mindezen jellemző tünetek mellett felléphet még hasi fájdalom (50%), fejfájás és a hasmenés okozta dehidráció (0-5%) is. Egy-négy napos inkubációs idő után jelentkehetnek a klinikai tünetek. Bizonyos esetekben azonban a fertőzés tünetmentesen is lefolyhat.

A gyermekkori fertőzéssel hosszú távú védettség alakul ki. Az idősök között előforduló esetek azonban arra utalnak, hogy a szervezet ellenanyag szintje és immunválasz-adó képessége a vírusra is az öregedéssel csökken. A betegség legtöbbször enyhe lefolyású; ha szükséges, folyadék- és elektrolit pótlással jól kezelhető. A megelőzésnek kulcsszerepe van az astrovírus okozta gastroenteritiszekben is. A megfelelő higiénés követelmények betartásával (kézmosás, tiszta ivóvíz, stb.) a fertőzés veszélye csökkenthető. Gyakran azonban a higiénés intézkedések önmagukban nem csökkentik eléggé a HAstV okozta hasmenéseket. Végleges megoldást egy oltóanyag jelentene, de vakcina jelenleg még nincs fejlesztés alatt.

A vírusok diagnosztizálásának legelső és legrégebbi módja a székletminták direkt elektronmikroszkópos (EM) vizsgálata. Az EM vizsgálat jó hatásfokkal detektálja az astrovírust, ha a víruspartikulumok igen nagy számban vannak jelen a mintákban ( $10^8$ - $10^{10}$ / ml). Napjainkban már e módszer kevésbé alkalmazható rutin diagnosztikai vizsgálatok elvégzésére, mivel nagyszámú minta tesztelését nem teszi lehetővé. Az elektronmikroszkópos vizsgálat másik hátránya, hogy nem ad mindig egyértelmű eredményt, hiszen a vírusok mindössze 10%-án látható a jellegzetesen csillag alakú struktúra. Sokkal inkább elterjedt a vírus kimutatására szolgáló immunológiai módszer, az ELISA, mely már kereskedelemben is kapható (DAKO, Dánia). Lényege, a vírus mono-és poliklonális savókkal történő kimutatása az úgynevezett szendvics-ELISA rendszerben. A módszer érzékenysége 91%-os, specifitása pedig 98%-os

értéket mutat. Előnye, hogy lehetővé teszi nagyszámú minta gyors, és megbízható vizsgálatát. A hagyományos virológiai módszerek számító tenyésztés rutin diagnosztikai célokra nem használható. A vírusok nehezen szaporíthatók szövetkultúrában, illetve, a mikroszkópos morfológiai kép alapján egyértelműen nem lehet következtetni a vírus szaporodására. Ennek oka a magas tripszin tartalmú közeg hatása, mely a vírus citopatogén hatásához hasonló elváltozásokat okoz a sejteken. Az eddigi tanulmányok azt bizonyítják, hogy a vírus leginkább humán colon carcinoma (CaCo2) sejtvonalon tenyészthető tripszint tartalmazó közegben. Napjainkban a legérzékenyebb módszer a virális RNS-nek specifikus RT-PCR módszerrel való kimutatása. E módszerrel mind a szövetkultúrában szaporított, mind pedig a székletmintákban található astrovírusból kivont RNS jól detektálható.

## Vizsgálataink előzményei

A humán astrovírusok szerepe mind a kutatásban, mind, pedig a klinikumban az elmúlt években egyre nőtt. 1975-ös felfedezésük óta a vírus jelentősége egyre nagyobb lett, így - a rotavírusok, enterális adenovírusok és a calicivírusok mellett - mára már a négy legfontosabb gyermekkori virális gasztroenterális ágens között tartják számon. A tipikus gasztroenterális tüneteket (hányás, hasmenés, hasi fájdalom, dehidráció és bizonyos esetekben láz) okozó vírus a világ különböző országaiban végzett vizsgálatok alapján a járványos és sporadikus virális eredetű hasmenéseknek 4-20%-át okozzák. Bizonyos esetekben a vírus okozta fertőzés komoly szövődeményekkel is járhat (pl.: bélbetüremkedés).

A humán astrovírusokkal kapcsolatos kutatások 1996-ban, kezdődtek a Baranya Megyei ÁNTSZ Regionális Virologiai Laboratóriumában. Kezdeti munkánk során, főleg egyénileg végzett kísérleteinkre, tapasztalatainkra és külföldi szakirodalomra támaszkodtunk, mivel újonnan felfedezett vírus lévén hazánkban publikált kutatások nem történtek e témában. Előzetes vizsgálataink azt igazolták, hogy HAstV antitestekkel a gyerekek jelentős része rendelkezik körülbelül 3 éves korára. Ez azt jelenti, hogy a fertőzés általános a gyermekek körében, mégis a vírus tényleges jelenléte csak igen nehezen vagy egyáltalán nem volt igazolható a betegektől származó klinikai mintákban. Munkánk első lépéseként tehát optimalizálni kellett a vírus kimutatását és tenyésztését szolgáló módszereket, amit mind immunológiai, mind, pedig molekuláris biológia technikák együttes alkalmazása tett lehetővé. Kutatásaink előrehaladtával aztán sikerült több törzset is kimutatni, szövetkultúrán izolálni és részletesebb molekuláris vizsgálatnak alávetni. Vizsgálataink eredményeit a gyakorlati orvoslás számára is szeretnénk volna felhasználhatóvá tenni, így nagy hangsúlyt fektettünk a vírus által okozott klinikai tünetek pontosabb megismerésére és ezek használhatóvá tételére a gyermekgyógyászatban is.

Az astrovírusokkal végzett kutatásokat mind az egyetemi éveim alatt (PTE, Természettudományi Kar), mind pedig a PhD program (PTE, Általános Orvostudományi Kar) keretén belül folytatni tudtam, így az elmúlt nyolc évben végzett kísérleti eredmények és a külföldi ösztöndíjak (Hollandia, Amerikai Egyesült Államok, Belgium) révén mára a laboratóriumunkban végzett astrovírus kutatás mind hazai mind nemzetközi szinten elismertté vált. Laboratóriumunk 2003-ban elnyerte a „*Gasztroenterális Vírusok Nemzeti Referencia Laboratóriuma*” címet.

## **Munkánk céljai**

- az RT-PCR módszer adaptálása a hazai epidemiológiai vizsgálatok céljából, illetve a módszer rutinszerű alkalmazása a humán astrovírusok kimutatására a klinikai gyakorlatban is,
- a vírus-specifikus RT-PCR módszer optimalizálása és alkalmazása a különböző hazánkban cirkuláló genotípusok gyakoriságának felmérésére
- e nehezen szaporítható vírusok szövetkultúrán történő tenyésztésének megvalósítása
- egy teljes év (2002) beteganyagának monitorozása és az eredmények epidemiológiai értékelése, mely a humán astrovírusok gyakoriságának, hónapos eloszlásának, a fertőzött gyermekek koreloszlásának vizsgálatából állt,
- a vírus által okozott fertőzés klinikai jellemzőinek leírása és azok összehasonlítása egyéb gastroenteritist okozó vírusok (pl. rotavírusok) által okozott tünetekkel,
- a hazánkban cirkuláló astrovírus törzsek részletes molekuláris jellemzése, filogenetikai analízise,
- a hazai törzsek genetikai mintázatának összehasonlítása a nemzetközi szakirodalomban publikált törzsekkel,
- a hazai egészségügyben elsősorban a gyermekgyógyászatban dolgozó orvosok, egészségügyi alkalmazottak számára lehetőséget adni a vírus kóroki szerepének és egyre növekvő jelentőségének megismerésére.

## Vizsgálati anyagok és módszerek

### Vizsgálati minták

A vizsgálatokhoz használt minták két fő csoportból álltak:

#### **A.**

A molekuláris epidemiológiai vizsgálatokhoz, a vírus molekuláris jellemzéséhez illetve a vírus által okozott klinikai tünetek elemzéséhez használt minták 2002. január és december között a Fővárosi Önkormányzat Szent László Kórházából érkeztek laboratóriumunkba, főleg 5 év alatti, kórházi ápolást igénylő, gastroenteritiszben szenvedő gyermekektől. A székletminták rotavírust, illetve kórokozó baktériumot nem tartalmaztak. A mintákat  $-20\text{ C}^\circ$ -on tároltuk a víruskimutatási kísérletek megkezdéséig.

#### **B.**

A pontosabb és részletesebb klinikai és filogenetikai jellemzéshez a 2002-ben kimutatott és elemzett minták mellett további 19 illetve 25 előzetesen pozitívnak értékelt minta adatait dolgoztunk fel, melyek 1995 és 2001 között vizsgálat, sporadikus esetekből származtak.

### A vírus kimutatására és jellemzésére használt módszerek

A molekuláris vizsgálatok elvégzéséhez a virális nukleinsav tisztítását **Trizol<sup>®</sup>** (Gibco BRL, New York, USA) módszerrel végeztük a gyártó felhasználói utasítása szerint, majd a humán astrovírusokat **vírus-specifikus reverz transzkripció-polimeráz láncreakció (RT-PCR)** módszerrel azonosítottuk a vizsgálati mintákban. A különböző genotípusok megállapítása egyrészt **típus-specifikus RT-PCR** módszerrel, másrészt **szekvencia meghatározással** történt. A hazánkban cirkuláló vírusok pontosabb és részletesebb molekuláris jellemzésének céljából **filogenetikai analízist** végeztünk.

### Számítógépes filogenetikai analízis

A filogenetikai analízishez használt „nyers” szekvenciákat először **GeneDoc v2.3** programmal szerkesztettük, majd az azonos szekvenciákat **DAMBE** illetve **ClustalX v1.8** szoftverek segítségével illesztettük a megfelelő csoportosítás érdekében. A filogenetikai fa létrehozásához szükséges szekvencia adatokat az előbbieket szerint összerendezett nukleinsav szekvenciák szolgáltatták. A filogenetikai analíziseket **PHYLIP** és **MEGA v2.1** programokkal futtattuk, „Maximum likelihood” illetve „Neighbor-Joining” algoritmusokat és statisztikai megerősítést



(„bootstrap” analízis) alkalmazva. A filogenetikai analízishez már előzetesen közölt (**GenBank**) szekvenciákat is használtuk, melyek referenciaként szolgáltak az egyes genotípusok esetében.

### Klinikai adatok feldolgozása

A vírus által okozott klinikai kép pontosabb megismerése érdekében legfontosabb jellemzőként egyrészt a hasmenés időtartamát (nap) és intenzitását (hasmenések száma/nap) másrészt a hányások időtartamát (nap) vizsgáltuk. Ezeken az adatokon kívül informatív volt még számunkra a láz és a hasmenés következtében kialakuló dehidráció esetleges jelenléte is. A könnyebb és precízebb adatfeldolgozás érdekében minden beteg gyermek fertőzésének súlyosságát az összegyűjtött klinikai adatok tükrében egy meghatározott értékkel jellemeztük egy 1-9-ig terjedő skálán (severty score), melyet előzetesen Hjelt és munkatársai állapította meg egy hasonló klinikai tanulmány elvégzésekor. A klinikai adatok statisztikai analízishez Man-Whitney U-tesztet használtunk.

## Eredmények bemutatása

### Epidemiológiai eredmények

A vizsgálat időszakban (2002. január – december) összesen 2758 székletminta került levételre gastroenteritisz tüneteket mutató öt év alatti gyermekektől. A minták 42 %-a (n=1159) bakteriális kórokozót, míg 36 %-a (n=992) rotavírust tartalmazott. A bakteriális kórokozókat és rotavírust nem tartalmazó 607 székletmintában a humán astrovírusok RNS genomjának jelenlétét RT-PCR vizsgálattal igazoltuk. Tíz (1,6%) minta bizonyult HAstV pozitívnek az elvégzett tesztek alapján. A fertőzött gyermekek közül 5 volt fiú és 5 volt lány, akiknek átlagéletkora 18 hónap volt. Az alacsony pozitivitás miatt az epidemiológiai vizsgálatokat nehezen tudtuk elvégezni. Ennek ellenére megvizsgálva a HAstV fertőzés megállapítására tesztelt (n=607) és HAstV pozitív minták (n=10) arányát, az alacsony pozitív mintaszám ellenére megállapítható, hogy HAstV fertőzés szignifikánsan gyakrabban fordult elő az 5 éves korosztály körében (5/39) mint az 1-4 év közötti gyermekek között (5/568); (p<0.001). A vírus a téli és tavaszi hónapokban egyaránt gyakrabban fordult elő (8/309), de a nyári (1/170) és őszi (1/128) hónapokban is kimutatható volt.

### Genotípus meghatározás típus-specifikus RT-PCR reakcióval és szekvencia meghatározással

A *vírus-specifikus* primerekkel történt pozitív RT-PCR reakció után a keletkezett termékből az adott fertőzést okozó astrovírus genotípusát szekvencia meghatározással végeztük el. Ennek alapján HAstV-1 (n=5), HAstV-3 (n=1), HAstV-4 (n=3) és HAstV-8 (n=1) genotípusú humán astrovírusokat mutattunk ki. Ugyanezen tíz pozitív minta *típus-specifikus* RT-PCR módszerrel - és típus-specifikus primerekkel - történt amplifikálásakor kilenc mint esetében a szekvencia meghatározással azonos eredményt kaptunk, és mindössze egy minta esetében nem kaptunk eredményt. Ez arra enged következtetni, hogy mind a vírus-specifikus, mind pedig a típus-azonos primerekkel történő RT-PCR kellően specifikus és érzékeny a vírus kimutatására és genotipizálására.

### Molekuláris szekvencia analízis és filogenetikai analízis

A komplex filogenetikai analízishez részben a 2002-es beteganyagból gyűjtött pozitív mintákat (n=10), részben pedig az előző években (1996-2000) kimutatott sporadikus esetekből származó vírusokat használtuk (n=24). A magyarországi törzsek nukleinsav szekvenciáit összehasonlítva

az elérhető referencia törzsek szekvencia adataival a különböző genotípusok megállapítása a legmagasabb nukleinsav homológia alapján történt. Hasonlóan a nemzetközi szakirodalomban közölt adatokhoz az HAstV-1-es genotípusú humán astrovírus folyamatosan kimutatható volt (n=23), de az egyéb genotípusok ritkább megjelenését is megfigyeltük (HAstV-3; 4; 5; 8).

Az RNS vírusokra gyakran jellemző genetikai sodródás nagyon jól megfigyelhető a HAstV-1 genotípusú minták szekvencia és filogenetikai analízisekor. Ez alapján a HAstV-1-es genotípusú vírusok jól elkülöníthető genetikai csoportokra oszthatók a különböző éveknek megfelelően. Ezeket a változásokat a HAstV-1-es genotípuson belüli folyamatos genetikai változások vagy egy új, illetve eddig lappangó törzs újbóli megjelenése eredményezheti, és ezzel újabb és újabb genetikai állományú vírusok válhatnak dominánssá a populációban. Vizsgálataink során két egymástól genetikailag jól elkülöníthető HAstV-4 genotípusú csoportot (alcsoportok: HAstV-4a és 4b) is sikerült leírunk. Mivel a filogenetikai analízishez használt szakasz a víruskapszid felszíni fehérjéit kódolja, így elképzelhető, hogy ez a jelentős genetikai különbség a szervezet vírus elleni védekező mechanizmusait is befolyásolja, és a két alcsoporttal való fertőzésére adott immunológiai válasz különböző lehet. Ennek bizonyítása azonban még további vizsgálatokat igényel.

#### A humán astrovírus fertőzés klinikai jellemzői

Hasonlóan a filogenetikai analízishez itt is részben a 2002-es beteganyagból gyűjtött eseteket (n=10), részben pedig az előző években kimutatott sporadikus esetekből származó betegek adatait vizsgáltuk (n=19). Kontroll populációként 63 rotavírussal fertőzött gyermek klinikai adatait használtuk. Vizsgálatainkhoz mindkét vírusról csak azokat az eseteket tudtuk felhasználni, amelyeknél a lehető legtöbb klinikai adat állt rendelkezésünkre az analízishez. Eredményeinkből jól látható, hogy a három vezető tünet (hasmenés, hányás, láz) közül a hasmenés mindkét vírushatás esetében (astrovírus és rotavírus fertőzéskor is) vezető kórkép volt, míg a három tünet együttes előfordulása a rotavírus fertőzött gyermekek között gyakrabban fordult elő mind az astrovírus fertőzöttek körében. Az is jól megfigyelhető, hogy - az irodalmi adatoknak megfelelően - a hasmenés időtartama (nap) szignifikánsan hosszabb volt a rotavírus fertőzés esetében, de ugyanezen tünet napi eloszlása (hasmenéses epizódok száma/nap) hozzávetőlegesen ugyanolyan volt mindkét vírushatásnál. Hasonló eredményeket kapunk akkor is, ha a hányásra vonatkozó adatokat vizsgáljuk. 37,5 °C feletti testhőmérséklet mindkét vírushatás esetén a betegek 70% illetve 72%-nál volt megfigyelhető. Mindezen tünetek mellett a fertőzött gyermekek 34%-a (HAstV) illetve 49%-a (RV) dehidrált a nagy mennyiségű

folyadékvesztés miatt és egy gyermeknél feltételezhetően az astrovírus fertőzés következtében súlyos, műtéti beavatkozást igénylő bélbetüremkedést figyeltünk meg. Az adatok teljes feldolgozása és az előzőleg már Hjelt és munkatársai által megalkotott mesterséges, 9 pontból álló pontrendszerbe való besorolása szerint megállapítható, hogy az astrovírus fertőzéssel kezelt gyermekek hasonló, de enyhébb tüneteket mutatnak, mint a rotavírus fertőzéssel kórházban ápoló hasonló korú betegek.

## **A hazai astrovírus kutatáshoz kapcsolódó előadások, előadás kivonatok és publikációk listája:**

### Nemzetközi tudományos előadások

- **F. Jakab**, J.E. Walter, T. Berke, D.O. Matson, D.K. Mitchell, G. Szűcs: Molecular characterization of human astroviruses circulating in Hungary. *Eight European Workshop on Virus Evolution and Molecular Epidemiology, 4-11, September, 2002 Leuven, Belgium*
- **F. Jakab**, Gy. Szűcs, D.K. Mitchell: Hospital-based assessment of human astrovirus infection. *Bridges in Life Sciences (A Networking Workshop for U.S. and Central and Eastern European Scientists), 8-10, October, 2003, Budapest, Hungary*
- **F. Jakab**, L. Varga, Z. Nyul, D. Mitchell, J. Walter, T. Berke, D. Matson, G. Szucs: Clinical characteristics of rotavirus, enteric adenovirus and astrovirus infections among hospitalised children in Hungary. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2–5, April, 2005, Copenhagen,)*

### Hazai tudományos előadások

- **Jakab F.**: A humán astrovírusok kimutatása tenyésztéssel és molekuláris biológiai módszerekkel. *XXIV. Országos Diákköri Konferencia, 1999, Debrecen*
- **Jakab F.**, Bányai K., Reuter G., Szűcs Gy.: A humán astrovírusok kimutatása tenyésztéssel és molekuláris biológiai módszerekkel. *Magyar Higiénikus Társaság Konferenciája, 2000. október, Debrecen*
- **Jakab F.**, Walter J.E., Berke T., D.O. Matson, Szűcs Gy., D.K. Mitchell: A humán astrovírusok jellemzése és molekuláris szekvencia analízise korházban ápoltság gyermekek körében hazánkban. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Konferenciája, 2001. október, Balatonfüred*
- **Jakab F.**, Tímár L., Bányai K., Szűcs Gy.: A human astrovirus fertőzések jellemzői és klinikai vonatkozásai. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Konferenciája, 2002. október, Balatonfüred*
- **Jakab F.**: A gastroenteralis vírusok jellemzői és szerepük a mindennapokban. (Felkért előadás a „Tudomány napja” alkalmából), *Magyar Tudományos Akadémia Pécsi Székháza, 2004. november 3., Pécs*

## Előadás kivonatok

- **F. Jakab**, J.E. Walter, E. Parada Richard, M. Staat, P. Azimi, T. Berke, D.O. Matson, D.K. Mitchell: Hospital-based assessment of human astrovirus infections in the United States. *Journal of Clinical Virology*, 2001, 22 (2): 157-158 (Abstract)
- **F. Jakab**, J.E. Walter, T. Berke, D.O. Matson, Gy. Szűcs, D.K. Mitchell.: Characterization and molecular sequence analysis of human astroviruses among hospitalized children in Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2003, 50, 264 (Abstract)
- **F. Jakab**, J.E. Walter, T. Berke, D.O. Matson, D.K. Mitchell, G. Szűcs: Molecular characterization of human astroviruses circulating in Hungary. *Infection, Genetics and Evolution*, 2003, 2, 217-218 (Abstract)
- **F. Jakab**, L. Tímár, K. Bányai, G. Szűcs: Characterisation and clinical features of human astrovirus infection. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2004, 51, 178 (Abstract)

## Publikációk:

- **Jakab F.**, Walter E.J., Szűcs Gy.: A humán astrovírusok jelentősége a gyermekkori gastroenteritisekben. (összefoglaló) *Klinikai Mikrobiológia és Immunologia*, VIII.évf. 3. szám 2001. október, 118-122.
- **Jakab F.**, Tímár L., Szűcs Gy.: A human astrovírusok okozta gastroenteritisek jellemzői és klinikuma kórházban ápoltságban gyermekek körében. *Gyermekgyógyászat*, 53. évf. 4. szám 2002. július, 419-424.
- **F. Jakab**, J.E. Walter, T. Berke, David O. Matson, Douglas K. Mitchell, Gy. Szűcs: Molecular characterization of human astroviruses circulating in Hungary. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 2003, 39, 97-102.
- **F. Jakab**, E. Meleg, K. Bányai, B. Meleg, L. Tímár, J. Péterfai, Gy. Szűcs: One year survey of astrovirus infection in children with gastroenteritis in a large hospital in Hungary - Occurrence and genetic analysis of astroviruses. *Journal of Medical Virology* 2004, 74(1), 71-77.
- **F. Jakab**, J. Péterfai, E. Meleg, K. Bányai, D.K. Mitchell, G. Szűcs: Clinical characteristics of HAsTV-associated infections diagnosed in 1997 to 2002 in Hungary. *Acta Paediatrica*, 2005, 94(6), 667-671.

- **F. Jakab**, J. Péterfai, T. Verebély, E. Meleg, K. Bányai, DK. Mitchell, G. Szűcs: Human astrovirus infection associated with childhood intussusception. (közlésre elfogadva - Pediatrics International, No#R100049-2005)

#### Könyvfejezetek

- Szűcs Gy, Bányai K, Reuter G, **Jakab F**: Gastroenteritist okozó vírusok. Orvosi Molekuláris Virologia. Szerkesztő: Berencsi György, Convention Kft, 2005, 22-39  
Fejezetek: Rotavírusok; Humán calicivírusok (norovírusok, sapovírusok); **Humán astrovírusok**; **Humán enterális adenovírusok**; Feltételezetten gastroenteritist okozó egyéb vírusok

**A szerző nemzetközi astrovírus kutatásban és egyéb kutatási témákban elért eredményeinek ismertetése (előadások, előadás kivonatok és publikációk listája):**

Nemzetközi tudományos előadások

- **F. Jakab**, J.E. Walter, E. Parada Richard, M. Staat, P. Azimi, T. Berke, D.O. Matson, D.K. Mitchell: Hospital-based assessment of human astrovirus infections in the United States. *8<sup>th</sup> Annual Pediatric Research Day, 7 June, 2001, Norfolk, VA, USA (poster presentation)*
- **F. Jakab**, J.E. Walter, E. Parada Richard, M. Staat, P. Azimi, T. Berke, D.O. Matson, D.K. Mitchell: Hospital-based assessment of human astrovirus infections in the United States. *5<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology (ESCV), September 2001, Lahti, Finland*
- E. Parada, T. Berke, J. Jiang, J. Walter, **F. Jakab**, M. Staat, P. Azimi, D.O. Matson: Human calicivirus infection in hospitalized children with gastroenteritis: a challenge to virus detection methods. *39<sup>th</sup> Annual Meeting of the Infectious Diseases Society of America (IDSA), October, 2001, San Francisco, CA, USA*
- Q.Snyder, J.E. Walter, **F. Jakab**, T. Wierzba, D.O. Matson, D.K. Mitchell: Detection and genetic characterization of the human astrovirus among hospitalized children in Egypt. *9<sup>th</sup> Annual Pediatric Research Day, June, 2001, Norfolk, VA, USA (poster presentation)*
- J.E. Walter, Q. Snyder, **F. Jakab**, T. Wierzba, D.O. Matson, D.K. Mitchell: Detection and genetic characterization of the human astrovirus among children treated for diarrhea at two hospitals in Egypt. *Annual Meeting of the Southern Society for Pediatric Research, February, 2002, New Orleans, LA, USA*
- J.E. Walter, **F. Jakab**, E.P. Ricart, C. Afflerbach, T. Berke, D.O. Matson, M. Staat, P. Azimi, D.K. Mitchell: Comparative analysis of infection caused by human astrovirus types among children hospitalized in the United States. *Annual Meeting for the Society for Pediatric Research, 4-7 May, 2002, Baltimore, Maryland, USA (poster presentation)*
- E. Parada, J. Walter, **F. Jakab**, C. Afflerbach, X. Jiang, M. Staat, P. Azimi, T. Berke, D.K. Mitchell, D.O. Matson: Comparison of clinical features of enteric viral infections among hospitalized children in the USA. *International Conference of Virology (ICV), 27 July – 1 August, 2002, Paris, France*
- D.K. Mitchell, J.E. Walter, **F. Jakab**, C. Afflerbach, B. Austin, Q. Snyder, L. Lawson, T. Wierzba, S. Fouad, I.A.A. Messih, M. Staat, P. Azimi, D.O. Matson: Astrovirus detection



by EIA and RT-PCR. *American Society for Virology (ASV), 20-24, July, 2002, Lexington, Kentucky, USA*

- K. Bányai, J.R. Gentsch, R. Schipp, **F. Jakab**, J. Bene, B. Melegh, R.I. Glass, Gy. Szűcs: Molecular epidemiology of human P[8],G rotaviruses in Hungary between 1998 and 2001. *8<sup>th</sup> International Symposium on ds-RNA Viruses, 13-18, September, 2003, Lucca, Italy*

#### Hazai tudományos előadások

- Szűcs Gy., **Jakab F.**, Új M.: 40-es típusú enterális adenovírusok első kimutatása és tenyésztése hazánkban. *Magyar Infektológiai Társaság Konferenciája, 1999, Debrecen*
- Gy. Szűcs, G. Reuter, K. Bányai, **F. Jakab**, M. Új: Importance, detection and taxonomic classification of human caliciviruses. *First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, 24-26 August, 2000, Keszthely, Hungary*
- Bányai K., J. Gentsch, R. Glass, Szűcs Gy., Reuter G., **Jakab F.**: G6 szerotípusú rotavírusok kimutatása Magyarországon – másodikként Európában. *Magyar Infektológiai Társaság Konferenciája, 2000, Budapest*
- Szűcs Gy., Reuter G., Bányai K., **Jakab F.**, Új M.: A molekuláris vizsgálatok megváltoztatták a humán calicivírusok klinikai jelentőségét és rendszertanát. *Magyar Infektológiai Társaság Konferenciája, 2000, Budapest*
- Bányai K., **Jakab F.**, Új M., Szűcs Gy.: G9 szerotípusú humán rotavírusok azonosítása és filogenetikai elemzése. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Konferenciája, 2002. október, Balatonfüred*
- Stranczinger Sz., **Jakab F.**, Borhidi A.: Molekuláris filogenetikai tanulmányok a *Rubiaceae* családban. *V. Magyar Genetikai Konferencia, 2003. április 13-15, Siófok*

#### Közlemények, abstractok

- Szűcs Gy., Reuter G., Bányai K., **Jakab F.**, Új M.: A molekuláris vizsgálatok megváltoztatták a humán calicivírusok klinikai jelentőségét és rendszertanát. *Klinikai Mikrobiológia és Immunológia, VIII.évf. 1. supplementum, S11, 2000. október.*

- Bányai K., J. Gentsch, R. Glass, Szűcs Gy., Reuter G., **Jakab F.**: G6 szerotípusú rotavírusok kimutatása Magyarországon – másodikként Európában. *Klinikai Mikrobiológia és Immunológia*, VIII.évf. 1. supplementum, S26, 2000. október.
- Gy. Szűcs, G. Reuter, K. Bányai, **F. Jakab**, M. Új: Importance, detection and taxonomic classification of human caliciviruses. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2001, 48, 209-10 (Abstract)
- van Kooij A., Middel J, **Jakab F**, Elfferich P, Koedijk D, Feijlbrief M, Scheffer A, Degener J, The T, Scheek R, Welling G, Welling-Wester S: High level expression and secretion of truncated forms of herpes simplex virus type 1 and 2 glycoprotein D produced in the methylotropic yeast *Pichia pastoris*. *Protein. Expr. Purif.*, 25 (3): 400-408, 2002
- K. Bányai, **F. Jakab**, G. Reuter, J. Bene, M. Új, B. Melegh, Gy. Szűcs: Sequence heterogeneity among human picobirnaviruses detected in a gastroenteritis outbreak. *Archives of Virology*, 2003. 148, 2281-2291.
- K. Bányai, J.R. Gentsch, R. Schipp, **F. Jakab**, J. Bene, B. Melegh, R.I. Glass, Gy. Szűcs: Molecular epidemiology of human P[8],G9 rotaviruses in Hungary between 1998 and 2001. *Journal of Medical Microbiology*, 2004. 53, 791-801.
- K. Bányai, JR. Gentsch, R. Schipp, **F. Jakab**, E. Meleg, I. Mihály, G: Szűcs Dominating prevalence of P[8],G1 and P[8],G9 rotavirus strains among hospitalized children between 2000 and 2003 in Budapest, Hungary. *Journal of Medical Virology*, 2005, 76(3), 414-423.
- K. Bányai, V. Martella, **F. Jakab**, B. Melegh, G: Szűcs: Sequence and phylogenetic analysis of human genotype P[6] rotavirus strains detected in Hungary: evidence for genetic heterogeneity within the P[6] VP4 gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42 (9), 4338-4343.
- K. Bányai, **F. Jakab**, M. Új, G. Szűcs: Identification and phylogenetic analysis of human serotype G9 rotaviruses. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 2004, 51, 179 (Abstract)