

**Prof. Dr. Rusvai Miklós**

egyetemi tanár  
az MTA doktora

Állatorvostudományi Egyetem  
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék  
Patológiai Tanszék

Tárgy: MTA doktori  
disszertáció bírálatára adott  
válaszok

Tisztelt Professzor Úr!

Ezúton is szeretném megköszönni, hogy disszertációm bírálatára szóló felkérést elfogadta, és kérdéseivel, észrevételeivel segítette munkámat.

Professzor Úr építő jellegű kritikai megjegyzéseire a következőket válaszolom:

A nyelvi illetve gépelési hibákért ezúton is elnézést kérek. Bár próbáltam a lehető legjobb tudásom szerint, többször átnézve a dolgozatot minden hibát feltárni, ezek szerint ez nem sikerült tökéletesen. Ennek megfelelően kellő tanulság ez számomra, hogy a jövőben még alaposabban és nagyobb körültekintéssel végezzem ilyen irányú munkámat is. Köszönöm, hogy Professzor Úr felhívta figyelmemet ezekre a hibákra, elütésekre.

Professzor Úr egy formai hibát emel ki, nevezetesen, hogy „a 91. oldalon az első bekezdés miért van szürke háttérrel kiemelve”.

Az igazság az, hogy nem csak a 91. oldalon éltem ezzel a formai elemmel, hanem a 12. és 28. oldalakon is. A szürke háttérrel kiemelt részek esetében az olvasó, az opponensek felé szerettem volna közölni olyan, a fejezettel kapcsolatos fontos információkat, amelyek szakmailag ugyan nem tartoznak szorosan a bekezdéshez, mégis úgy éreztem, annak tartalmi olvasásához, megértéséhez az általam közölni kívánt információk elengedhetetlenek.

Professzor Úr felvetését a „humán esettanulmányok kapcsán” a következőkkel magyaráznám: Valóban szervesen nem illeszkednek a dolgozat címéhez, nem a vírusok diverzitásnak vizsgálatát célozzák, ennek ellenére mivel az első komoly klinikai tanulmányok között szerepelnek, ami a hantavírusokkal kapcsolatban megjelent hazánkban, úgy éreztem, érdemes róla szót ejteni. Másodszorban mivel a klinikai minták esetében is molekuláris kimutatás illetve jellemzést végeztünk hasznosnak tartottam itt megjegyezni, ha másért nem, akkor a molekuláris diagnosztika nehézségei miatt is. Végül, de nem utolsó sorban, bár biológusként végeztem, szinte egész eddigi tudományos tevékenységem alatt humán patogén kórokozókkal foglalkoztam. Így valóban nem tudtam ellenállni a kísértésnek, hogy bele ne csempésszem dolgozatomba ezeket az általam fontosnak vélt és érdekes eseteket.

Professzor Úr filovírusokra vonatkozó kérdésére, miszerint milyenek voltak, illetve voltak-e kórbonctani-kórszövettani elváltozások a denevérekben azt tudom mondani, hogy ilyen vizsgálatokat nem tudtunk végezni. Ennek fő oka, hogy annak ellenére, hogy nem ismerjük a vírus humán megbetegítő képességét, jelenleg a Lloviu vírussal, mint új filovírussal történő minden jellegű munkavégzés kizárólag magas biztonsági szintű laboratóriumban (BSL-4) lehetséges. Ilyen jellegű szövettani vizsgálatokra a mi BSL-4 laboratóriumunk nincs felkészülve, a natív mintával pedig a laboratóriumon kívül nem dolgozhattunk. A másik fontos ok, hogy néhány kivétellel a tetemek nem voltak jó állapotban, így szövettani vizsgálatot nem is tudtunk volna végezni. Az elmondható azonban, hogy a jobb állapotban

lévő állatok boncolásakor jelentős eltérést nem tudunk megállapítani. A disszertáció elkészítése óta nagyon sok kísérletet végeztünk a témában, leírtunk virémiás stádiumban lévő teljesen egészséges állatot is, így egyre inkább úgy tűnik, hogy a denevér a vírus hordozásában vesz részt! Eredményeinket igen magas szakmai színvonalú lapban kívánjuk a közeljövőben publikálni.

Válaszaimat az Ön kérdéseinek sorrendjében és azok megismétlésével részletezem:

1. *„Eredményei alapján a hantavírus szeroprevalencia nem elhanyagolható mértékű Magyarországon (5. táblázat), és a fertőzés következtében kialakuló megbetegedések az esetleírások alapján akár fatális kimenetelűek is lehetnek, különösen a diagnosztikai nehézségeket figyelembe véve. Ez utóbbiak mind az átlagnál alacsonyabb szeroprevalenciát mutató Kelet-Dunántúl régióhoz köthetők. Van-e megfelelő diagnosztikai háttér, és lokálisan végzett vizsgálati eredmény a legfertőzöttebb Északi-középhegység (IV.) régióban, vagy a mintákat központilag vizsgálják?”*

Válasz: A jelenlegi hivatalos jogszabályokhoz igazodva minden hantavírus gyanús esetet központilag szabályozva, a Nemzeti Népegészségügyi Központ, Virális Zoonózisok Nemzeti Referencia Laboratóriumában vizsgálnak. E tekintetben a „18/1998. (VI. 3.) (akkori) Népjóléti Minisztérium rendelet a fertőző betegségek és a járványok megelőzése érdekében szükséges járványügyi intézkedésekről” szóló utasítás az irányadó.

2. *„A KKVLV előfordulásának tekintetében a végzett vizsgálatok alapján (vagy a disszertáció óta végzett vizsgálatok alapján) melyik vázolt teóriát tartja valószínűbbnek? A KKVLV vagy annak közeli rokona okozza a nem elhanyagolható mértékű szeroprevalenciát Magyarországon? Van-e tudomása a KKVLV-vel szerológiai keresztreakciót adó vírusok létezéséről, illetve hazai előfordulásáról? (A Rift völgyi láz nem fordul elő hazánkban.)”*

Válasz: Az értekezés benyújtását követően újabb vizsgálatok eredményeit publikáltuk a témában (Földes és mtsai., 2019). Ennek keretében összesen 2085 rágcsáló mintát vizsgáltunk dot-blot és immunfluoreszcens mikroszkópia módszerével annak érdekében, hogy a KKVLV ellen termelődött IgG antitestek jelenlétét igazoljuk. A vizsgálat során a Hoti-Kosovo törzset, A549 sejtvonalon izoláltuk BSL-4 laboratóriumi körülménye között, így a kapott eredményeket különösen objektíven tudtuk értékelni. A vizsgálat során 20 mintát ítéltünk pozitívnak, ami a tesztelt rágcsálók 0,96%-át tette ki. Ha a tényeket tekintjük, akkor négy megállapítást kell tennünk:

1. a vírus ellen termelődött antitesteket már az 1970-es évek elején kimutatták szarvasmarhákban és juhokban (Molnár és mtsai., 1982),
2. általunk végzett kísérletekben szintén szeropozitivitást írtunk le nyulakban (Németh és mtsai., 2013),
3. legújabb eredményként szeropozitivitást írtunk le rágcsálókban (Földes és mtsai., 2019),
4. hazánkban az *Ixodes ricinus* (mint a leggyakoribb kullancsfaj) lárva és nimfa stádiumban erősen parazitálják a kisemlősöket (Földvári és mtsai., 2011; Szekeres és mtsai., 2015).

Mindezek alapján fenntartjuk azon véleményünket, hogy hazánkban egy *I. ricinus* által terjesztett törzs cirkulálhat, ami hasonlóan a *Rhipicephalus bursa* által közvetített AP92 törzshöz apathogén vagy kevésbé pathogén. Ez magyarázná a többszörösen is megerősített pozitív szerológiai eredményeket, illetve azt is, hogy miért nem látunk klinikai esetet. Az alacsony pathogenitású AP92 törzs esetében is mindössze két klinikai tanulmány készült, noha a vírust már 1975-ben leírták és jelenlétét azóta is számos országban igazolták. Elképzelhető, hogy ugyan volt már humán megbetegedés hazánkban, de a gyenge és/vagy

nem specifikus tünetek miatt nem került az egészségügyi ellátó rendszer látóterébe. Ennek a teóriának a tisztázására jelenleg is két kísérletet végzünk párhuzamosan: egyfelől folyamatosan próbáljuk a vírust kimutatni molekuláris módszerekkel kullancsokból, másfelől szerológiai módszerekkel vizsgáljuk a KKVLV ellen termelődött IgG antitestek jelenlétét a hazai erdészeti és mezőgazdasági dolgozóktól vett vérmintákban.

A szerológiai keresztreakció tekintetében nem tudunk jelenleg hazánkban olyan kórokozóról, ami keresztreakciót válthatott volna ki az említett szerológiai vizsgálatok esetén. Marriott és munkatársainak vizsgálatában (1994) a KKVLV rekombináns nukleoproteinnel egyedül a Hazara vírus (a KKVLV közeli rokon vírus) mutatott nagyon gyenge pozitivitást. Ez a vírus hazánkban nem fordul elő.

Összességében elmondható, hogy a szerológiai módszerek mellett a molekuláris biológiai módszerek alkalmazása, a vírus nukleinsav alapú kimutatása elengedhetetlen a vírus tényleges prevalenciájának, jelentőségének és esetleges humán egészségügyi relevanciájának megállapítása érdekében.

3. *„A disszertációban ismertetett WNV vizsgálatokat 2013-ban zárta le. Sikerült-e vírust kimutatnia a WNV esetszám 2018-as drasztikus megemelkedése kapcsán emberi vagy állati mintákból? Hogyan értékeli, és mivel magyarázza a tavalyi hirtelen megemelkedés után az idei jóval alacsonyabb értéket a hazai WNV fertőzések esetszámát illetően?”*

Válasz: A jelenség nem egyedi, és éppen kutatócsoportunk keretein belül indult az a kezdeményezés, melynek eredményeként végül kilenc hazai, a WNV témával foglalkozó kutatóhely összefogásával részben választ kaphattunk a kérdésre.

Az okok nagy valószínűséggel a megfelelő környezeti paraméterekre vezethetők vissza és semmiképpen sem újonnan megjelent, antigenitásukban némileg eltérő vírustörzsek megjelenésére. Erről Zana és munkatársai számolnak be idei, 2020-as közleményükben. A 2018-as, kiemelkedő esetszámokkal járó járvány során olyan genetikai variánsokat azonosítottunk melyek diverzifikációja körülbelül a 2012-es évre vezethető vissza. Ezen széleskörű kooperáción alapuló munka során evolúciós történetüket sikeresen rekonstruáltuk, ráadásul a feltételezett genetikai progenitor törzset már évekkel ezelőtt sikeresen izoláltuk Szerbiából származó csípőszúnyog mintákból.

A környezeti paraméterek szerepére sajnálatos módon, adekvát országos csípőszúnyog felmérési rendszer hiányában nem rendelkezhetünk közvetlen bizonyítékokkal. Ám az előzőekben taglalt virológiai munka kizárta az újonnan felbukkant genetikai variánsok szerepét a járvány kialakulásában. A 2019-es év redukált esetszámait így mind a környezeti paraméterek kevésbé kedvező alakulásával – különös tekintettel a betegség terjesztésében kulcsszerephez jutó *Culex* nembe tartozó szúnyogokra – mind pedig a járványos évet követő humán és állati gazdaszervezetekben létrejött szerzett immunitás kialakulásával is magyarázhatjuk. Erre vonatkozóan vannak kiterjedt tudományos bizonyítékok, melyek mind a szerzett immunitás, mind pedig a különféle környezeti faktorok markáns szerepét feltárta. Egyik ilyen jelentős tanulmányt Paull és munkatársai közölték 2017-ben.

4. *„Van-e humán relevanciája az egyes madaraktól származó WNV törzsek genetikai mintázataiban kimutatott és madarakban termotoleranciát és neuropatogenitás-növekedést valószínűsítő változásoknak? Az emberi esetekből származó vírustörzsek jelentős része nem mutatja ezt a szubsztitúciót. A termotolerancia növekedése, ami előnyös a madarakban szaporodó vírus számára, nem okoz-e éppen patogenitás-csökkenést a madaraknál alacsonyabb testhőmérsékletű alkalmi gazda emlősfajokban?”*

Válasz: Előljáróban el kell mondani, hogy a maximális átvitel lehetőségének szempontjából a WNV törzseknek rendelkezniük kell azzal a képességgel, hogy replikáció-képesek különféle hőmérsékleteken, kezdve a szúnyogok által tapasztalt körülbelül 14 C°-os hőmérséklettől a

lázás madár 45 C°-os hőmérsékletéig. Azok a törzsek, amelyek nem képesek ellenállni a lázas madarak magas hőmérsékleteinek, várhatóan hátrányos helyzetbe kerülnek a terjedés szempontjából. Ezt a folyamatot részletesen elemző írás 2016-ban jelent meg Dietrich és munkatársaitól.

A madarakban megfigyelt, termotoleranciát és neuropathogenitást befolyásoló mutációk, minden esetben a WNV 1-es törzsének genetikai variánsa kapcsán kerültek vizsgálatra. Ismertek a WNV 2-es törzsének esetében is ilyen irányú mutációk (pl: NS3 (P249H)), melyek neuropatogenitásban betöltött szerepe azonban nem teljesen tisztázott, egymásnak ellentmondó tudományos publikációk is megjelentek a témában. Éppen magyar kutatók foglalkoztak a WNV-1 esetében a neuropatogenitás megváltozásában szerepet játszó mutációk, európai WNV-2-re történő adaptációjával és kísérletes vizsgálatával (Szentpáli-Gavallér és mtsai., 2016). Sajnos a WNV-2 esetében erősen hiányos a szakirodalom a termotolerancia vonatkozásában, továbbá a madár-ember viszonylatú fenotípus változások vizsgálata sem kielégítő. A madarak amplifikációs gazdaszervezetként betöltött szerepe kulcsfontosságú a vírus evolúciójában, így az itt létrejött mutációk vizsgálata, a transzmissziós ciklus teljes skáláján (csípőszúnyog-madár-ember) igen érdekes és gyakorlati szempontból is hasznos kutatási terület lenne.

Remélve, hogy opponens úr válaszámat elfogadja, szeretném ismét megköszönni kérdéseit és áldozatos munkáját.

Tisztelettel és köszönettel: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jakab Ferenc

Pécs, 2020. február 15.