

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Humán polyomavírusok prevalenciájának vizsgálata

Jeles Krisztina

Témavezető: Dr. Csoma Eszter



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2024

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

BKPyV	BK polyomavírus
HPyV	Humán polyomavírus
HPyV6	Humán polyomavírus 6
HPyV7	Humán polyomavírus 7
HPyV9	Humán polyomavírus 9
HPyV12	Humán polyomavírus 12
HPyV16	Humán polyomavírus 16
JCPyV	JC polyomavírus
KIPyV	Karolinska Institutet polyomavírus
LTag	nagy tumorantigén (=large tumor antigen)
MCC	Merkel sejt carcinoma (=Merkel cell carcinoma)
MCPyV	Merkel sejt polyomavírus
MWPyV	Malawi polyomavírus
NCCR	nem kódoló, kontroll régió (=non-coding control region)
SARS-CoV-2	súlyos akut légzőszervi szindróma koronavírus 2
sTag	kis tumorantigén (=small tumor antigen)
STLPyV	Saint Louis polyomavírus
TS	trichodysplasia spinulosa
TSPyV	Trichodysplasia spinulosa-asszociált polyomavírus
VLP	vírusszerű protein (=virus like protein)
VP1	vírus protein 1 (=viral protein 1)
WUPyV	Washington University polyomavírus

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1. Polyomavírusok	3
2.2. Humán polyomavírusok	6
2.3. KI polyomavírus	8
2.4. WU polyomavírus	10
2.5. Merkel sejt polyomavírus	12
2.6. Humán polyomavírus 6	14
2.7. Humán polyomavírus 7	15
2.8. Trichodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus	17
3. CÉLKITŰZÉSEK	19
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	20
4.1. SZEROPREVALENCIA VIZSGÁLATOK	20
4.1.1. Minták	20
4.1.2. Rekombináns fehérjék előállítása és tisztítása	21
4.1.2.1. VP1 expressziós plazmidok előállítása	21
4.1.2.2. Bakteriális fehérjeexpresszió	25
4.1.2.3. A VP1 fehérje tisztítása	25
4.1.2.4. Antigén minőségi analízise	26
4.1.3. ELISA	27
4.2. DNS PREVALENCIA VIZSGÁLATOK	29
4.2.1. KIPyV és WUPyV DNS prevalencia vizsgálatához használt légúti minták	29
4.2.2. A nukleinsav izolálása	29
4.2.3. Real-time PCR	29
4.3. STATISZTIKAI VIZSGÁLATOK	30
4.4. NEM ÖNÁLLÓAN VÉGZETT MUNKÁK, METODIKÁK	30

5. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	31
5.1. A VP1 fehérjék minőségi és mennyiségi vizsgálata	31
5.2. Az ELISA vizsgálatok specificitása	31
5.3. KI polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat	33
5.4. WU polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat	34
5.5. KI és WU polyomavírus DNS prevalencia légúti mintákban	35
5.6. Merkel sejt polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat	37
5.7. Humán polyomavírus 6 szeroprevalencia vizsgálat	44
5.8. Humán polyomavírus 7 szeroprevalencia vizsgálat	46
5.9. Trichodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat	49
6. ÖSSZEFOGLALÁS	53
7. SUMMARY	54
8. IRODALOMJEGYZÉK	55
9. TÁRGYSZAVAK	66
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	67
11. FÜGGELÉK	68

1. BEVEZETÉS

Napjainkban a nukleinsav-amplifikációs módszerek és a szekvenálási technikák fejlődése, olcsóbbá válása a virológiai kutatások új korszakát nyitotta meg. Teret hódított a szekvenciavadászat, az új vírusgenomok utáni kutatás. A fertőzőes eredetű betegségek esetében a kórokozó azonosítása gyorsabbá vált, nem kizárólag csak a vírus klasszikus módszerekkel történő izolálására támaszkodhatunk. Jó példa erre a közelmúltban világjárványt okozó SARS-CoV-2 leírása: ugyan *in vitro* izolálták is, de genomját hamarabb szekvenálva már tudták, hogy új vírusfaj okoz fertőzést. Ugyanakkor a genomvadászatok sok esetben random mintákból, klinikai tünetek nélkül, nagy áteresztőképességű szekvenálási technikákkal végzett szekvenanciaanalízisek, metagenom-analízisek. Ennek is köszönhetően a 2000-es években ugrásszerűen megnőtt az újként leírt vírusfajok száma: 1999-ben 1550 vírusfajt tartottak számon, míg 2023-ban 14 690-et.

A szekvenciavadászat a *Polyomaviridae* családban is számos új faj leírását eredményezte. Cirkuláris, duplaszálú, kisméretű DNS genomjuk miatt viszonylag könnyű célpontok. Az elmúlt, közel két évtized alatt 16 új humánpatogén vagy potenciálisan embert fertőző polyomavírus genomszekvenciáját írták le. A klasszikus virológiai kutatásokhoz szükséges virionokat azonban nem izolálták. Néhány esetben betegség miatt, célzottan keresték a kórokozót, és a későbbi kutatások igazolták is a vírusok kórképekben betöltött szerepét. A legtöbb humán polyomavírus klinikai jelentősége, ha van, még feltáratlan. A polyomavírusok madarakban, emlősökben, így emberben is súlyos betegséget okozhatnak. A már jól ismert, humánpatogén BK (BKPyV) és JC polyomavírus (JCPyV) által okozott primer fertőzés javarészt tünetmentes, a vírusok viszont életre szóló látenciát alakítanak ki. Reaktivációjuk immunszuppresszált betegekben súlyos, olykor halálos kimenetelű megbetegedéseket okozhat. Az orvostudomány fejlődése miatt egyre több az immunszuppresszív terápiában részesülő, legyengült immunrendszerű beteg, így az opportunistá patogének, reaktiválódó látens vírusfertőzések növekvő problémát jelentenek. A fertőzőes eredetű klinikai tünetekhez nem mindig tudnak ismert kórokozót társítani, ami az esetlegesen ismeretlen, új vírusok, kórokozók utáni vadászat igényét fokozza. Bár csak az emlősöket fertőzők közt és csak néhány polyomavírust azonosítottak tumorvírusként, mégis mind potenciálisan onkogén a genomjuk által kódolt, szabályozó T-antigének miatt. Emiatt szintén kitüntetett figyelmet élvez a víruscsalád.

Bár az új, humánpatogén polyomavírusokkal kapcsolatos kutatások felfedezésük után rögtön elkezdődtek, a legtöbbjükéről ma is csekély információval rendelkezünk, betegséghez is csak néhányuk köthető. Az alapvető virológiai kérdések megválaszolásához további, több irányban zajló vizsgálatokra van szükség.

A szeroprevalencia vizsgálatokkal feltérképezhetjük, hogy mennyire elterjedt a vírus az adott populációban, földrajzi különbségeket tárhatunk fel. Különböző korcsoportokban végzett vizsgálatok esetén választ kaphatunk arra, hogy milyen életkorban történhet a primer fertőzés, igazolhatjuk esetleges veszélyeztetett betegcsoportok meglétét, valamint a terjedés módjáról is képet kaphatunk. Ennek kivitelezéséhez vizsgálati minták gyűjtésére, és megfelelő, a vírusfertőzést igazoló szerológiai módszerre van szükség.

A DNS prevalencia vizsgálatok elengedhetetlenek ahhoz, hogy a vírusok terjedésének módját, a vírusszaporodás, az esetleges látencia és reaktiváció helyét/helyeit, valamint a transzmisszió mikéntjét megismerhessük. Ehhez különféle klinikai mintákból a vírus, a virális nukleinsav jelenlétét, annak mennyiségét szükséges vizsgálni, társfertőzéseket is azonosítani. A szekvenciák analízise pedig a vírusok esetleges genetikai, földrajzi változékonyságát tárhatja fel.

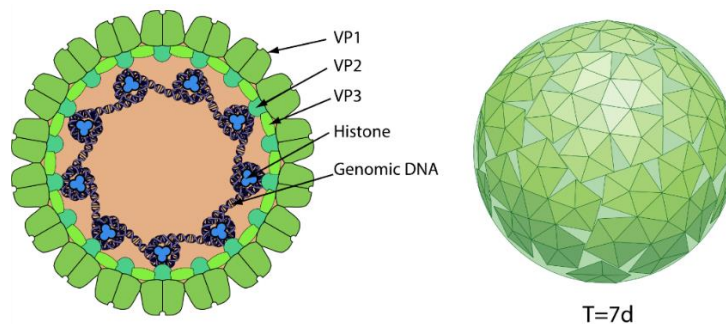
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A doktori értekezésben egységesen a vírusnevek és nem a fajnevek szerepelnek.

2.1. Polyomavírusok

A *Polyomaviridae* család tagjai 40–45 nm átmérőjű, cirkuláris, kettősszalú DNS genommal rendelkező, burok nélküli vírusok. Felépítésüknek köszönhetően igen ellenállóak a hőnek, különböző kémiai anyagoknak, így a formalinnal történő kezelésnek, illetve detergensnek is. Az ikozahedrális kapszid 72 kapszomerből épül fel, minden pentamer öt VP1 (VP= vírus protein) fehérjét és egy VP2-t, a legtöbb polyomavírus esetén VP3-at is tartalmaz (1. ábra). A kapszomerek egymáshoz a VP1 fehérje C-terminális részén keresztül kapcsolódnak. A pentamerek kapcsolódását kalcium ionok és diszulfid-hidas kötések is erősítik. A virionok belsejében található virális genom csomagolódását gazdasejt eredetű hiszton proteinek (H2A, H2B, H3 és H4) segítik.

1. ábra: A humán polyomavírusok virionjának felépítése
(<https://viralzone.expasy.org>)



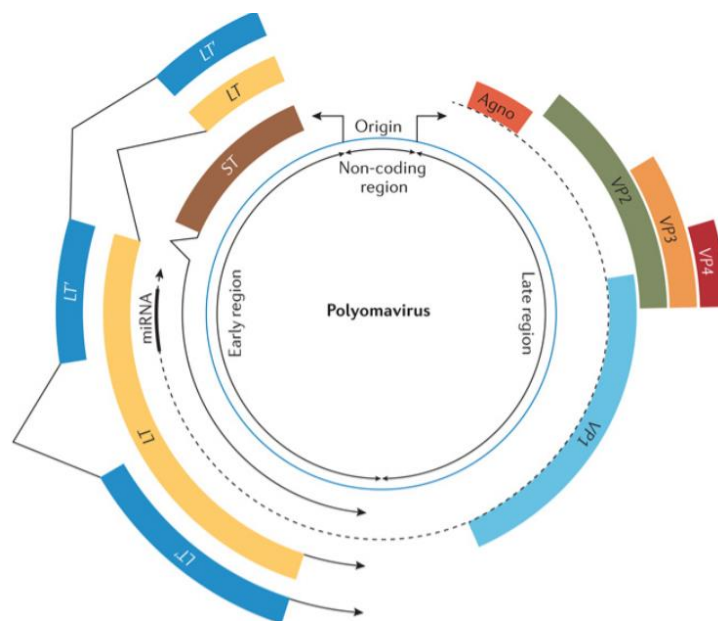
VP1: vírus protein 1, VP2: vírus protein 2, VP3: vírus protein 3

Az eddig ismert 16 humán polyomavírus közül a Saint Louis Polyomavírus (STLPyV) rendelkezik a legkisebb, 4776 bp nagyságú genommal, míg a Merkel sejt polyomavírus (MCPyV) 5387 bázispárból álló genomja a legnagyobbnak számít. Néhány állati polyomavírus rendelkezik továbbá VP4 fehérjével is, melynek meglétét szekvenciaelemzések alapján a JC és BK polyomavírusoknál is felvetették [1, 2]. Jelentősége a humán polyomavírusok esetében feltáratlan, azonban a majom polyomavírus 40-nel (SV40=simian vacuolating virus 40), kapcsolatos tanulmányok alapján tudjuk, hogy a VP4 a sejtmagmembránon pórusokat képez, ezzel elősegítve a

virionok sejtmagból történő kiszabadulását [1], egyéb, madár polyomavírusok esetében a VP4 fehérjék részt vesznek a virális genom csomagolásában és apoptózist indukálnak [2]. A külvilággal kizárólag a viron VP1 fehérjéje érintkezik, a fogékony sejt felszínén lévő receptorhoz kötődik, ez a vírus fő antigénje. A prokarióta vagy eukarióta fehérjeexpressziós rendszerben előállított és tisztított, rekombináns VP1 fehérjék képesek önmagukban – virális DNS, VP2 vagy VP3 fehérjék nélkül – kapszomerekké összeállni, melyek megfelelő körülmények között intakt kapszidot képeznek. Ezt a struktúrát nevezzük VLP-nek (virus like particle, vírusszerű partikulum), amit például szeroprevalencia vizsgálatokhoz használhatnak [3].

A polyomavírusok genomja funkcionálisan három részre osztható: a korai, a késői, illetve az ezek között elhelyezkedő nem kódoló, kontroll régióra (NCCR=non-coding control region). Ez utóbbi tartalmazza a replikációs origót, enhanszereket, promótereket, valamint a transzkripció startkodonokat. A polyomavírusok sajátossága, hogy a genom mindkét szála kódoló, az NCCR kétirányú transzkripciót tesz lehetővé (2. ábra).

2. ábra: A polyomavírusok genomjának felépítése [4]



ST: kis tumor antigén, LT: nagy tumor antigén

Az eredeti ábra szerkesztői ST és LT rövidítésekkel jelölték a kis és nagy tumorantigéneket, ezt a szerzői jogok védelme miatt nem tudjuk módosítani. A disszertációban az onkoproteinek nevei egységesen sTag-ként és LTag-ként szerepelnek.

Az egyik szálon, egyik irányban a korai régió a replikáció és génextpresszió szabályozását végző, transzformáló hatású kis (sTag=small tumor antigen) és nagy tumorantigéneket (LTag=large tumor antigen) kódolja. A korai régióról egyéb fehérjék is keletkezhetnek. A késői régió a másik szálon, ellentétes irányban a virion felépítéséhez szükséges VP1, VP2 és VP3 struktúrfehérjéket, mikroRNS-eket, egyes vírusoknál agnoproteineket, esetleg VP4-et is kódol. Számos állati polyomavírus mellett a humán BKPyV, JCPyV és MCPyV is rendelkezik mikroRNS-ekkel, melyek fontos szerepet tölthetnek be a perzisztens fertőzés kialakításában, fenntartásában; az agnoproteineknek a transzkripció szabályozásában, a maturációban, valamint a vírus sejtből történő kiszabadulásában lehet szerepük [3].

A *Polyomaviridae* családban 1999-ben 12 fajt tartottak számon. Ma már az LTag szekvenciája alapján [5] jelenleg 118 humán és állati polyomavírus fajt különítenek el, melyek közül 113-at nyolc nemzetségbe soroltak be: az *Alpha-*, *Beta-*, *Delta-*, *Epsilon-*, *Eta-*, *Gamma-*, *Theta-* és *Zetapolyomavirus* genusokba emlősöket és madarakat fertőző vírusok tartoznak (<https://ictv.global>). A víruscsalád első tagját, az egér polyomavírust 1953-ban fedezték fel, melyről később állatmodellekben végzett kísérletek során bebizonyosodott, hogy számos tumor képződését képes indukálni [6, 7]. Innen ered a polyomavírus elnevezés (poly=sok, oma=tumor). 1960-ban rhesus majmok vesesejtjein végzett vizsgálatok során egy újabb polyomavírust fedeztek fel, melyet majom polyomavírus 40-nek (SV40) neveztek el [8]. Állatmodelleken végzett kísérletek során igazolódott onkogén mivolta, számos humán daganatban detektálták jelenlétét, valamint humán sejtvonalakon transzformáló hatásának bizonyult [9]. Az 1950-es évek közepétől egészen 1963-ig számos országban, a becslések szerint mintegy 100 millió ember kapta meg az SV40-nel kontaminált, járványos gyermekbénulás kórokozója elleni poliovírus vakcinát. A tény, hogy az SV40 rágcsőlkban bizonyítottan tumorkeltő, valamint humán sejtkultúrákban *in vitro* transzformáló hatású, aggodalmat keltett. Bár azóta is folyamatosan kutatott terület, annak ellenére, hogy emberi mintákból, még daganatokból is kimutatták, jelenleg sem bizonyított, hogy emberben tumorkeltő lenne vagy betegséget okozna [10].

Az első polyomavírusok felfedezésétől számítva több mint 70 év telt el. Azóta tudjuk, hogy a *Polyomaviridae* család tagjai igen diverz gazdaspektrummal rendelkeznek, emlősök és madarak közt széles körben elterjedtek, de ismert hullőket, kétélűeket, halakat fertőző polyomavírus is, sőt, már ízeltlábúakból is azonosítottak polyomavírus szekvenciákat [11].

2.2. Humán polyomavírusok

Az első két humánpatogén polyomavírus leírása 1971-ben történt meg. A BKPyV-et egy vesetranszplantált beteg vizeletmintájából [12], míg a JCPyV-et egy progresszív multifocalis leukoencephalopathia (PML) tüneteit mutató páciens agyszövetéből izolálták klasszikus virológiai módszerekkel [13]. A vírusok elnevezése a betegek monogramja alapján történt. Ezeknek a vírusoknak a patogenezise, klinikai jelentősége már jól ismert. Tudjuk, hogy a populáció >80%-át megfertőzik, a primer infekció feltehetően szubklinikai módon zajlik, majd a vírus különböző szervekben, szövetekben életre szóló látenciát alakít ki. A reaktiváció egészséges emberekben is megtörténik, azonban súlyos, olykor életet veszélyeztető klinikai következményekkel immunszuppresszáltak esetében jár. A BKPyV reaktivációja transzplantált betegek 30–60%-ában jelent problémát. Vesetranszplantáltakban súlyos esetben kialakulhat nephritis, ureter stenosis, valamint a betegek 1–10%-át érintő polyomavírus-asszociált nephropathia is, ami progrediálva akár a beültetett szerv elvesztését is okozhatja. Csontvelő-transzplantáltak esetében a reaktiváció következtében nő a haematuria, valamint haemorrhagiás cystitis kialakulásának kockázata [14-16]. A JCPyV reaktivációjának következményeként, szintén immunszupprimált, immunterápiában részesülő betegekben kialakulhat a már említett, zömmel fatális kimenetelű, a myelinhüvely károsodásával járó PML. Ezenkívül meningitis, encephalopathia, illetve neuropathia is előfordulhat [17-20]. A BK és JC vírus rágcslókon végzett kísérletek során onkogénnek bizonyult. Ma már egyre több tanulmány utal arra, hogy a BKPyV elsősorban vesetranszplantáltak körében előforduló, hólyag- és vesedaganatok kialakulásában játszhat szerepet, jelenleg azonban még nem tumorvírusként tartjuk számon [21-23].

2007-ben akut légúti megbetegedésben szenvedő gyerekek nasopharyngeális mintájából két új humán polyomavírus teljes genomszekvenciáját írták le. Az egyiket a stockholmi Karolinska Intézet munkatársai, míg a másikat a Washington Egyetem kutatói azonosították. A felfedezés helyeiről az új vírusokat Karolinska Intézetet (KIPyV) és Washington University polyomavírusoknak (WUPyV) nevezték el [24, 25]. 2008-ban az első, jelenlegi tudásunk alapján egyetlen, bizonyítottan tumorkeltő humán polyomavírust írták le Merkel sejt carcinómából (MCC=Merkel cell carcinoma) [26]. 2010-ben három új, polyomavírust azonosítottak. A humán polyomavírus 6-ot (HPyV6) és humán polyomavírus 7-et (HPyV7) egészséges emberek bőrmintáiból fedezték fel [27].

Ugyanebben az évben egy szívtranszplantált, trichodysplasia spinulosa (TS) tüneteit mutató beteg arcának tüskeszerű kinövéseiből a trichodysplasia spinulosa-asszociált polyomavírust (TSPyV) írták le [28]. A humán polyomavírus 9 genomját (HPyV9) 2011-ben azonosították egy vesetranszplantált beteg vérmintájából [29], míg a Malawi polyomavírust (MWPyV) egészséges gyerekek székletmintájából írták le 2012-ben [30]. 2013-ban a humán polyomavírus 12 (HPyV12) teljes genomját májszövetből [31], a Saint Louis polyomavírusét (STLPyV) pedig székletmintából publikálták [32]. 2017-ben a HPyV12 genomjával szinte teljesen megegyező vírust azonosítottak cickányokból [33], ami kétségesse tette, hogy a HPyV12 valóban embert fertőző vírus-e. Egy New Jersey-ben élő, vesetranszplantált nő izombiopsziájából 2014-ben írták le a sorban következő, tizenharmadik humán polyomavírust, aminek a New Jersey polyomavírus (NJPyV) nevet adták [34]. A Lyon IARC polyomavírust (LIPyV) bőrfelszínről vett mintából mutatták ki 2017-ben, a vírust a kutatóintézetről nevezték el [35]. A felfedezés helyéről Quebec polyomavírusnak (QPyV) elnevezett vírus 2019-ben leközölt székletminta metagenom-analízisből származik [36]. A legújabb humán polyomavírust 2023-ban publikálták egészséges emberek bőrmintájából, és a leírás sorrendjét követve humán polyomavírus 16-nak (HPyV16) nevezték el [37]. Az újonnan felfedezett polyomavírusok közül a Nemzetközi Vírustaxonomiai Bizottság a QPyV-et és a HPyV16-ot még nem sorolta víruscsaládba. Az eddig ismert humán polyomavírusokat az **1. táblázat** mutatja be.

1. táblázat: *Humán polyomavírusok*

Vírus	Felfedezés éve	Név eredete	Minta, amiből felfedezték	Genom mérete (bp)	Nemzetség
BKPyV	1971	B. K. beteg	vizelet	5141	<i>Betapolyomavirus</i>
JCPyV	1971	J. C. beteg	agyszövet	5130	<i>Betapolyomavirus</i>
KIPyV	2007	Karolinska Institutet	légúti minta	5040	<i>Betapolyomavirus</i>
WUPyV	2007	Washington University	légúti minta	5229	<i>Betapolyomavirus</i>
MCPyV	2008	Merkel sejt carcinoma	Merkel sejt carcinoma	5387	<i>Alphapolyomavirus</i>
HPyV6	2010	sorrend	bőr	4926	<i>Deltapolyomavirus</i>
HPyV7	2010	sorrend	bőr	4949	<i>Deltapolyomavirus</i>
TSPyV	2010	trichodysplasia spinulosa	bőr	5232	<i>Alphapolyomavirus</i>
HPyV9	2011	sorrend	vér, vizelet	5026	<i>Alphapolyomavirus</i>

MWPyV	2012	Malawi	széklet	4939	<i>Deltapolyomavirus</i>
STLPyV	2013	Saint Louis	széklet	4776	<i>Deltapolyomavirus</i>
NJPyV	2014	New Jersey	izombiopszia	5108	<i>Alphapolyomavirus</i>
LIPyV	2017	Lyon International Agency for Research on Cancer	bőr	5269	<i>Alphapolyomavirus</i>
QPyV	2019	Quebec City	széklet	4973	nem besorolt
HPyV16	2023	sorrend	bőr	-	nem besorolt

Az új, 2007 után közölt polyomavírusok közül betegséget egyértelműen kettőhöz köthetünk. Az MCPyV tumorvírus, az MCC etiológiai ágense, a TSPyV pedig a bőr tüskeszerű kitüremkedéseivel és alopeciával járó TS betegséget okozza [26, 38]. A humán polyomavirus 6-hoz és 7-hez, vélhetően a látens fertőzés reaktivációja következtében kialakuló, elsősorban immunszupprimált betegek viszketéssel járó, hiperkeratosisos bőrbetegségét kötik [39]. A KI és WU polyomavírusokat gyakran detektálták felső légúti váladékokban, ami miatt felvetették kóroki szerepüket különböző légúti megbetegedésekben, önálló vagy akár társfertőző vírusokként, bizonyítani azonban máig nem sikerült [40].

2.3. KI polyomavírus

A KIPyV a *Betapolyomavirus* nemzetségbe tartozik, filogenetikai vizsgálatok alapján legközelebbi rokona a WUPyV [41]. Annak ellenére, hogy a felfedezést követően azonnal megindultak a szeroprevalencia és DNS prevalencia vizsgálatok, a KIPyV klinikai jelentősége máig nem tisztázott. A világ különböző régióiból származó, felnőttek körében mért 55–95,7%-os szeropozitivitás alapján a vírus széles körben elterjedt, bár az adatok jelentős eltérést mutatnak. A néhány kutatócsoport által gyermekek körében detektált, felnőttekéhez hasonló átfertőzöttségi ráta alapján a primer infekciók jelentős része nagy valószínűséggel kisgyermekkorban következik be [42-45].

A KIPyV terjedési módja, a behatolási kapu, a replikáció helye ismeretlen, ahogy azt sem tudjuk, a primer fertőzést követően a vírus látens fertőzésként a szervezetben marad-e. A KIPyV ubiquiter jellege miatt felmerül a légúti terjedés, a szájon át behatolás, akár fekál-orál úton történő terjedés is. Mivel a vírust légúti tüneteket mutató beteg

nasopharyngeális mintájából fedezték fel, így a vizsgálatok jelentős része a légúti mintákra fókuszált.

A KIPyV DNS-t légúti tüneteket mutató vagy egészséges személyektől vett felső légúti minták (nasopharyngeális aspirátum, tamponnal vett torok, orr- vagy orrgaratminták) 0–34,4%-ában detektálták. A vírus immunkompetens felnőttek mintáiban ritkán volt kimutatható, a DNS prevalencia gyermekektől (0,1–10,2%) és immunszuppresszált betegektől (0,8–34,4%) származó mintákban volt magasabb [46–50]. A gyermekekre vonatkozó adatok erősítik az ellenanyagvizsgálatok eredményeit, miszerint a primer fertőzés fiatal gyermekek körében gyakoribb. Alsó légúti, bronchoalveoláris lavage minták 0,7–11,3%-ában detektálták a vírust, a prevalencia szintén az immunszupprimáltakban bizonyult magasabbnak [46, 51, 52]. A virális DNS mennyiségét is meghatározó vizsgálatok során több esetben is viszonylag magas kópiaszámot ($>10^5$ kópia/mL) detektáltak a légúti mintákban [46, 53, 54], ami felveti, hogy a KIPyV a légutakban replikálódhat. Ezt erősíti a megfigyelés, hogy nyomkövetéses vizsgálat során a vírus napokkal vagy hetekkel később is kimutatható volt a légutakból [55–58]. Néhány kutatócsoport tüdőszövetben vizsgálta jelenlétét, három esetben virális DNS-t [54, 59, 60] vagy antigént [61] mutattak ki. Megjegyzendő, hogy a vizsgált minták száma (1–30) és a KIPyV pozitív tüdőszövetek száma (1–9) is alacsony volt, vírusreplikációt pedig egyik esetben sem igazoltak. Érdekesség, hogy 9 tumoros tüdőszövetben is kimutatták a KIPyV jelenlétét [61], bár más, szintén tumorokat vizsgáló kutatások negatív eredménnyel zárultak [54]. Ezzel összhangban munkacsoportunk korábban sem tumoros (n=100), sem tumoros elváltozást nem mutató (n=47) tüdőszövetben sem detektálta a KIPyV DNS-t [62]. Bár néhány esettanulmányban kórházi ellátást igénylő, légúti tünetektől szenvedő beteg esetén igazolták a KIPyV jelenlétét, magas kópiaszámát, sőt még génexpresszióra utaló RNS-eseit is [46, 47, 53], továbbra is kérdéses, hogy a KIPyV okoz-e légúti tüneteket, esetleg társfertőző vírusként súlyosbítja-e a más légúti kórokozók által okozott betegségeket. A KIPyV pozitív mintákban igen gyakran, 33–86%-ban egyidejűleg egyéb, légúti megbetegedést okozó mikroba (e.g. humán bocavírus, humán metapneumovírus, RSV (respiratory syncytial virus), enterovírus, adenovírus, influenza-A és B, patogén baktériumok) jelenlétét is bizonyították [63–66]. Számos tanulmányban viszont légúti tünetek idején hiába igazolták a KIPyV jelenlétét, más kórokozók vizsgálata nem történt [50, 64, 67, 68]. A 2019-es koronavírus betegség (COVID-19=coronavirus disease 2019) pandémia idején egy olasz kutatócsoport a SARS-CoV-2 fertőzött felnőttek légúti mintájának 24%-ában KIPyV

DNS-t is kimutatott, ami kiugróan magas érték. Ráadásul a SARS-CoV-2 negatív, szintén felnőttekből álló, kontroll csoport mintáiban nem volt jelen a vírus. A KIPyV jelenléte szignifikáns korrelációt mutatott a SARS-CoV-2 RNS mennyiségével, a koinfekció esetén a SARS-CoV-2 RNS nagyobb mennyiségét figyelték meg [50].

KIPyV DNS-t mutattak még ki vizeletből (2–4,1%), székletből (0,5–40%), vérből (0,5–12,5%), lymphoid szövetből, orr- és garatmandulából, agyszövetből és benignus bőrtumorból is (1,8–25%) [49, 68-71]. Jelenléte a székletben utalhat fekál-orál módon történő terjedésre. Bár a nukleinsavát kimutatták gastrointestinalis panaszoktól szenvedők székletmintájában, patogén szerepe az egyidejűleg kimutatott egyéb kórokozók (e.g. rotavírus, adenovírus) miatt kérdéses [24, 46].

Az, hogy a KIPyV bizonyítottan képes viraemiát és viruriát okozni, számos hipotézist vet fel. Elképzelhető, hogy a vírus a behatolási kapu(k) helyéről (légút, szájüreg, gastrointestinalis traktus) a vérárammal a szervezeten belül disszeminálódhat, amelyben a légút másodlagos nyirokszövelei szerepet játszhatnak. A vírus a vese, húgyutak, nyirokszövetek sejtjeibe jutva perzisztálhat, akár látenciát alakíthat ki, majd immunszuppresszió hatására reaktiválódhat, a légutakon keresztül, vizelettel, széklettel – akár tünetmentesen – ürülhet. A KIPyV átfertőzöttség mértéke hazánkban nem ismert. A munkacsoportunk által korábban publikált, hazai légúti minták vizsgálatából származó prevalencia adatok a nemzetközi eredményekkel összhangban állnak. Magasabb volt a KIPyV DNS prevalencia immunszupprimáltak légúti mintáiban (14,3%); gyermekek légúti váladékában kimutatható volt (1,7%), az egészséges immunrendszerű felnőttektől vett mintákban viszont nem [57, 69].

2.4. WU polyomavírus

A WUPyV is a *Betapolyomavirus* nemzetségbe tartozik [41]. Az eddig publikált szeroprevalencia vizsgálatok alapján a WUPyV a populáció nagy részét megfertőzi, mivel a felnőttek 69–99%-a rendelkezett vírusellenes ellenanyaggal [43, 45, 72, 73]. A WUPyV primer fertőzések is vélhetően jórészt gyermekkorban zajlanak, mivel a szeropozitivitás aránya gyermekek körében is magas, 39,5–79% volt abban a néhány tanulmányban, amely során gyermekeket is vizsgáltak [41-43, 74]. A potenciális átviteli útvonalak közt kell megemlíteni a légúti terjedést, azonban ilyen mértékű populációs átfertőzöttség esetén a fekál-orál úton történő transzmisszió is felmerülhet.

Prevalencia vizsgálatokban – hasonló okok miatt és hasonlóan a KIPyV-hez – a leggyakoribb mintatípus a különféle légúti váladék volt, amelyekben 0–33,3%-os gyakorisággal mutatták ki a WUPyV örökítőanyagát [51, 52, 75]. A vírus előfordulási aránya a gyerekek (0,4–27,5%) és immunszuppresszált betegektől származó légúti mintákban volt magasabb (0,8–25,8%), immunkompetens felnőttek esetében ritkábban vagy egyáltalán nem volt kimutatható [46, 47, 50, 63, 76]. Bár időnként igen magas WUPyV DNS mennyiséget is detektáltak ($>10^5$ kópia/mL) [46, 53, 54], a KIPyV-hez hasonlóan a WUPyV kóroki szerepe sem tisztázott. Légúti tünetek nélkül is igazolták jelenlétét, az általában enyhe tünetek esetén pedig legtöbbször vagy társfertőzők (e.g., adenovírus, rhinovírus, parainfluenza vírus, influenza-A és B, RSV) is jelen voltak, vagy azokat nem is vizsgálták [47, 64, 77]. A vírust kimutatták alsó légútban [46, 51, 52, 75], sőt tüdőszövetben is [60]. Néhány esettanulmányban igazolták a WUPyV DNS pozitivitást a tünetek fennállása idején, és más, ismert kórokozó nem volt jelen a mintában [40, 65]. Vírusreplikációra utaló virális antigént is mutattak már ki tüdőszövetből, tracheából [78, 79]. Ezek alapján feltételezik, hogy a WUPyV képes a légutakban replikálódni [46, 54, 78, 80].

WUPyV DNS-t detektáltak még vizeletből (1,2–12%), székletből (0,5–35,5%), agy- és lymphoid szövetből (7,1–27%), valamint vérből is (0,5–8,3%) [55, 58, 80–86]. A vizelet, széklet fertőzőforrásként funkcionálhat [46, 71, 82, 87]. A WUPyV viraemia arra utal, hogy a vírus a szervezeten belül a vérárammal szóródhat, továbbá felmerült, hogy a lymphoid szövetek perzisztens fertőzés helyei lehetnek.

Magyarországi szeroprevalencia adatokkal nem rendelkezünk, azonban DNS prevalencia eredményeket, így légúti minták vizsgálatából származó adatokat munkacsoportunk már publikált. A WUPyV DNS szintén gyenge immunstátuszú betegek légúti mintáiban volt jelen nagyobb arányban (9,1%). Gyermekektől származó légúti váladékban a WUPyV DNS prevalenciája (5%) magasabb volt a KIPyV-hez képest, immunkompetens felnőttek légúti mintájában viszont szintén nem volt kimutatható [49, 55, 57, 62, 69, 88].

2020-ban Wang és kutatócsoportja jelentős áttörést ért el, humán légúti epithel sejteken *in vitro* szaporították, sikeresen izolálták a WUPyV-et [89]. Egyéb *in vitro* vizsgálatokról szóló közleményeket azonban azóta sem publikáltak.

2.5. Merkel sejt polyomavírus

Az 1972-ben leírt MCC egy igen ritka (0,1–1,6/100 000 fő évente), rendkívül agresszív bőrtumor [90, 91]. A halálozási aránya 15–33%, de akár a 45%-ot is meghaladhatja [92]. Megjelenését tekintve vöröses színű, tömött szövetszaporulat, amely az esetek többségében a napfénynek kitett bőrfelületeken – arc, nyaki régió, karok – jelentkezik (**3. ábra**). Fokozott kockázati csoportba tartoznak az idősek, fehér bőrűek, erős UV sugárzásnak kitett személyek, valamint az immunszuppresszált betegek [93].

3. ábra: *Merkel sejt carcinoma [94]*



Az ábrán MCC-ben szenvedő beteg bőrén látható a jellemző vöröses, tömött szövetszaporulat.

Az MCC kutatása 2008-ban kapott nagy lendületet, amikor a tumorból leírták az MCPyV-et [26]. Az eddigi kutatások alapján a vírus a daganatok ~80%-ában megtalálható, kivéve Ausztráliában, ahol a tumorok mindössze negyedében mutatták ki [95-97]. Az MCPyV DNS-e a gazdasejt genomjában klonálisan integrált formában van jelen. Az MCPyV pozitív tumorok tartósan expresszálják a vírus onkoproteinjeit, a korai régió fehérjéit, azonban az LTag egy C-terminálisan rövidebb formája fejeződik ki. Ez a helikáz aktivitásának elvesztése miatt nem képes a vírusreplikációs folyamatok inicializálására, de a tumorképződésben elengedhetetlen szerepe van [98]. Az MCPyV pozitív tumorok kialakulásában a vírus etiológiai ágens, míg a vírus negatív tumorokban az UV sugárzás a kulcsfontosságú tényező [97, 99]. Az MCC prevalenciája Ausztráliában a legmagasabb (1,3–1,6/100 000 fő évente). Ott a populáció túlnyomó része kaukázusi, az egész évben magas UV sugárzásnak való kitettség miatt, a daganatok nagy része a fej-nyaki régióra lokalizálódik és MCPyV negatív [100]. Ezzel ellentétben például az Amerikai Egyesült Államokban az évenkénti esetek száma 0,7/100 000 fő, Európában

0,1/100 000 fő, a tumorok döntő többsége a végtagokon található és hordozza a polyomavírus genomját [101-103]. Ez a tény klinikai szempontból jelentős: számos tanulmány bizonyítja, hogy a vírus negatív tumorok agresszívebben viselkednek, a progresszió fokozottabb, illetve a mortalitás is magasabb [93, 104, 105]. A vírus pozitív tumorok prognózisa általában jobb, illetve kisebb mutációs rátával rendelkeznek, mint azok a daganatok, amikből nem mutatták ki a vírus jelenlétét [106]. Az MCC incidenciája világszerte fokozatosan növekszik, melynek számos oka lehet. Többek között a modern diagnosztikai módszerek elérhetőbbé válása, a jobb életkörülmények biztosította megnövekedett élettartam, a fokozott UV-expozíció. Emellett az orvostudomány fejlődése miatt nő az immunszupprimált betegek száma, akik esetében fokozott a tumorképződés kockázata. Mindemellett a viszonylag újonnan megismert, súlyos kimenetelű kórkép és az ahhoz köthető vírus vonzza a kutatók, orvosok figyelmét, növekszik a diagnosztikai vizsgálatok száma is [93].

Az *Alphapolyomavirus* nemzetségbe tartozó MCPyV szoros rokonságban áll a TSPyV-vel [107]. A felmérések alapján a gyerekek 34–68,4%-a, míg a felnőttek 42–88%-a szeropozitív [43, 108-110]. Ezen adatok arra engednek következtetni, hogy a vírus széles körben elterjedt, a primer fertőzések zöme gyerekkorban történik. Figyelemre méltó azonban, hogy milyen nagy az eltérés az egyes kutatócsoportok által publikált, felnőttekre vonatkozó szeroprevalencia adatokban [111-114]. A világ különböző pontjairól származó DNS prevalencia felmérések alapján a vírust az egészséges bőrszöveti minták 11%-ából mutatták ki [96]. Nem MCC bőrelváltozásokban, egyéb bőrtumorokban (melanomában, laphám- és bazálsjtes carcinómákban, keratoacanthómában, keratosisban) is kimutatták az MCPyV DNS-ét, azonban az MCC-hez képest jóval alacsonyabb a prevalencia (4–21%) [115-118]. Mivel a normál, egészséges bőrmintákhoz képest alacsonyabb volt a prevalencia, így ezekben a betegségekben a vírus kóroki szerepe kérdéses.

Az MCPyV DNS-t kimutatták még agy-, mandula-, mell-, méh-, szív- és tüdőszövet, valamint szájnyálkahártya mintákból (0,8–58,6%), felső légúti váladékokból (1,1–34,2%), vizeletből (0,6–21%) és vérből (0,6–39,1%) is [58, 119-124]. Hasonlóan a többi polyomavírushoz, az immunszuppresszáltak magasabb prevalencia értékeit figyelhetjük meg.

Az MCPyV terjedésével kapcsolatos kérdések még nyitottak. Az, hogy egészséges emberek bőrmintájából detektálták, valamint onnan tünetmentes ürülését megerősítették, valószínűsíti a közvetlen, bőr a bőrrel érintkezés útján történő terjedést. A vírusreplikáció

a bőr fibroblastjaiban megy végbe [125]. Ezek mellett azonban a bizonyított viruria, valamint a légutak különböző sejtjeinek, szöveteinek érintettsége miatt a vizelettel és légúti váladékokkal történő transzmisszió sem vethető el [126-129].

Hazánkban még nem publikáltak szeroprevalencia adatot, DNS prevalencia vizsgálatokat azonban már végeztek. Mivel a tumor ritka, így 8, 9 és szintén 9 MCC-s esetet dolgoztak fel. Két vizsgálatban a tumorok többségében (77%) igazolták az MCPyV DNS jelenlétét [130, 131], míg egy tanulmányban csak a tumorok 37,5%-a bizonyult vírus DNS pozitívnak [132].

2.6. Humán polyomavírus 6

A HPyV6 a *Deltapolyomavirus* nemzetségbe tartozik, filogenetikai analízisek alapján legközelebbi rokona a HPyV7 [133].

A HPyV6 is igen gyakori a populációban, az eddigi felmérések alapján a felnőttek 52–93%-a rendelkezik kapszidellenes ellenanyaggal, a szeropozitivitás életkorral növekvő [72, 108, 110, 134, 135]. A vírus DNS jelenlétét egészséges bőrszöveti minták 12–30%-ában detektálták, sőt igazolták, hogy a bőr felszínéről virionok ürülnek [27]. Az életkorral a prevalencia mellett a vírus mennyisége is nő, idősebb személyekben fokozottabb a vírusreplikáció és a vírus ürítése is [136]. Bár a HPyV6 célsejtjei nem ismertek, feltételezik, hogy a keratinocytákat fertőzheti, és a bőrben perzisztens HPyV6 fertőzés alakul ki [39, 95, 133]. A vírus terjedési módja nem ismert, de a bőr a bőrrel kontaktus útján történő terjedés igen valószínű.

Onkogén potenciálja miatt különböző bőr és nem bőrtumorban is tanulmányozták a HPyV6 jelenlétét. Bazálsejtes carcinómában, laphámsejtes carcinómában, keratoacanthómában, trichoblastómában, MCC-ben, kután T-sejtes lymphómában, keratosisban is detektálták a HPyV6 DNS-ét, a kutatások zöme kis mintaszámmal zajlott [124, 137-139]. Esetleges szerepe a karcinogenezisben, főként bőrtumorok esetén felmerült ugyan, de ez idáig nem igazolódott. Egyéb, nem bőrtumorok közül mandulacarcinómában, valamint máj- és epeúti carcinómában szenvedő betegek epefolyadékában is jelen volt a vírus, általában alacsony kópiaszámban [116, 124, 140, 141]. A HPyV6 DNS-t garatmandulából, csecsemőmirigyből, vizeletből, légúti mintából, vérből, liquorból és székletből is kimutatták, azonban a prevalencia és vírus DNS mennyisége is alacsony volt [19, 58, 142-147]. Bárhol is van a behatolási kapu, a vírus valószínűleg disszeminálódik a szervezetben. Mivel a szövetekben alacsony

kópiaszámmal volt jelen, illetve az átfertőzöttségi ráta magas, így valószínű, hogy a HPyV6 is látens fertőzést hoz létre a szervezetben.

A vírus kóroki szerepét bőrbetegségben esettanulmányok alapján vetették fel. Úgy vélik, viszketéssel járó, hiperkeratosisos bőrbetegséget okozhatnak, amely nagyon hasonló a HPyV7 fertőzéshez társított bőrbetegséghez. A mintákból a HPyV6 expresszált fehérjéinek jelenlétét immunhisztokémiával igazolták, a normál bőrszövetekhez képest magasabb virális DNS mennyiséget mutattak ki, és elektronmikroszkóppal virionok sokaságát detektálták. Érdekes tény, hogy a vírusgenomok szekvenciája jelentősen eltérő volt a korábban már publikáltakhoz képest: a nem kódoló, kontroll régióban deléció, inzerciót és nukleotid szubsztitúciót írtak le, de a korai és késői régióban is számos nukleotidcsere történt [39].

Hazai szeroprevalencia és DNS prevalencia vizsgálat még nem történt, az esetlegesen HPyV6 által okozott kórképről sem számoltak be.

2.7. Humán polyomavírus 7

A *Deltapolyomavirus* genusba tartozó HPyV7 a HPyV6-tal áll legközelebbi rokonságban [133]. A két vírus prevalenciájának vizsgálatát gyakran együtt végezték a kutatók.

Nemzetközi szeroprevalencia adatok alapján a felnőtt populáció nagy része rendelkezik HPyV7 elleni antitestekkel, az átfertőzöttség mértéke 55–80,3% közötti [45, 73, 110, 148].

Egészségesektől származó, bőrszöveti mintákban 9,7–12,4%-os PCR pozitivitást publikáltak [136, 138, 149, 150]. Hasonlóan a HPyV6-hoz igazolták a bőrfelszínről történő vírusürülést is [27]. Érdekes, hogy a HPyV6-hoz képest az idősek körében gyakrabban volt kimutatható magas kópiaszámmal a HPyV7 DNS-e, valamint fokozott vírusreplikációt is megfigyeltek [136]. A vírus terjedésének módja nem tisztázott, néhány tanulmány a közvetlen, bőr a bőrrel érintkezés útján történő transzmissziót vetette fel [39, 95, 136, 151]. A HPyV7 célsejtjeit nem ismerjük, az epidermisz sejtjeinek, a keratinocytáknak a patogenezisben, perzisztáló vírusfertőzésben betöltött szerepe néhány tanulmány alapján felmerül [39, 95, 133].

Különféle bőrtumorokban (bazál- és laphámsejtes carcinómában, keratoacanthomában, trichoblastomában, MCC, cutan T-sejtes lymphomában, keratosisban) 0,4–4,3%-os gyakorisággal mutatták ki a virális nukleinsavat, minden

esetben alacsony kópiaszámmal [139, 140, 149, 152]. Karcinogenezisben betöltött szerepe nem igazolódott. Leírták még mandulacarcinómás betegek mandulaszövetéből (1,8–2,6%), mellcarcinómás betegek mellszövet mintájából (1,3–2%), valamint csecsemőmirigy és epeút carcinómás betegek tumoros mintáiból is (54–69%) [128, 153–156]. Jelenlétét megerősítették vizeletben [58, 142], légúti mintában [58, 145], székletben [145] és vérkészítményekben is [72, 124, 147]. A HPyV6-hoz hasonlóan esettanulmányok alapján feltételezhető, hogy immunszupprimáltakban a bőr viszkető, hiperkeratósissal, pikkelyszerű elváltozásával járó betegséget okoz (4. ábra).

Vérben való előfordulásával igazolták, hogy a szervezetten belül disszeminálódik. A szeroprevalencia vizsgálatok alapján a populáció nagy részét megfertőzi, immunszupprimált betegek kivételével alacsony a szövetekben mutatkozó prevalenciája, aktív vírusfertőzésre utaló, magas kópiaszámokat sem detektáltak. Ezek alapján valószínűsíthető, hogy a BK és JC vírusokhoz hasonlóan a HPyV7 is képes tünetmentes, látens állapot létrehozására.

4. ábra: *Viszketéssel járó, hiperkeratósissal járó bőrbetegség klinikai képe [39, 151]*



A két felső fotón egy AIDS-es beteg generalizált, hiperpigmentált pikkelyes bőrküütése látható, amelyből HPyV7 jelenlétét igazolták [39]. A két alsó fotón tüdőtranszplantált betegek viszkető, barnás, bársonyos kinézetű, pikkelyszerű bőrelváltozásai láthatók [151].

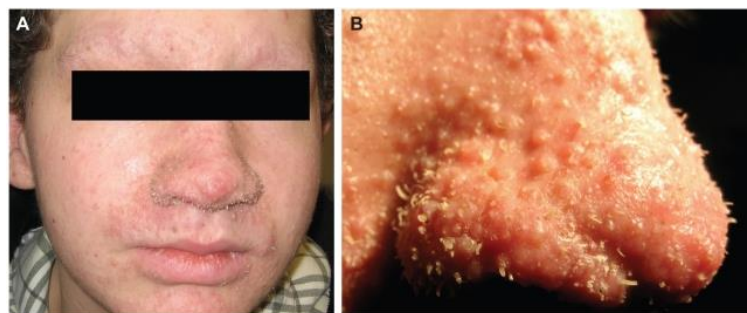
Immunhisztokémiai vizsgálattal a HPyV7 onkoproteinjeinek és kapszidfehérjéinek expresszáldását, a virális DNS emelkedett mennyiségét mutatták ki [39, 148, 151]. Sőt, elektronmikroszkóppal a polyomavírusok morfológiájának megfelelő virionokat is detektáltak [151]. Ezenfelül a betegek vérében is detektálható volt a vírus örökítőanyaga, ami tovább erősíti a szervezetben történő szóródás valószínűségét [151]. A tünetes betegekből származó HPyV7 genomok szekvenciája számos ponton eltért a referencia genomtól. A varianciák egy része a NCCR-t érintette, ami befolyásolhatja a vírusok replikációját, virulenciáját [39].

Magyarországi szeroprevalencia és DNS prevalencia adat sem áll rendelkezésünkre, illetve HPyV7-hez köthető megbetegedésről sem publikáltak még.

2.8. Trichodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus

A TS-t először 1999-ben írták le. A kizárólag immuszupprimáltakban előforduló bőrbetegségnek karakterisztikus ismertetőjegyei a bőr tüskeszerű kitüremkedései, melyek leggyakrabban az orron, szemöldökön és fülkagylón figyelhetők meg, de akár más testrészek is érintettek lehetnek (**5. ábra**). A kórképet ezen kívül a szemöldök, esetenként a szempillák hiánya, illetve a bőr megvastagodása miatt eltorzuló, oroszlánszerű arcvonások jellemzik [38]. Igen ritka, eddig összesen mindössze 60 esetet regisztráltak világszerte [157].

5. ábra: A *trichodysplasia spinulosa* jellegzetes tünetei [28]



A) A képen látható a beteg bőrének megvastagodása a szemöldöknél és az orron, valamint a szemöldök elvesztése. Papulák láthatók az arcon, állon, homlokon, és a fülön is. **B)** A beteg orrán a tüskeszerű bőrnyúlványokat, papulákat mutatja a közelebről készített felvétel.

A betegséget kezdetben az immunszuppresszáltak terápiájában használt cyclosporin mellékhatásának vélték. Azt, hogy a kórkép hátterében egy vírus állhat már 1999-ben

felvetették, mert elektronmikroszkóppal vírusszerű partikulumokat láttak a biopsziában [38]. A TSPyV-et végül 2010-ben van der Meijden és munkacsoportja fedezte fel. Ugyanez a kutatócsoport vesetranszplantált betegek szemöldökéből is kimutatta a TSPyV DNS-ét, bizonyítva ezzel, hogy a vírus nem kizárólag a TS tüskeszerű képleteiben fordul elő [28].

A TSPyV az *Alphapolyomavirus* nemzetség tagja, közelrokon az MCPyV-vel [107]. Bár a betegség nagyon ritka, úgy tűnik, maga a vírus ubiquiter, a felnőttek 63–80%-a bizonyult szeropozitívnak az eddig elvégzett felmérésekben [74, 158-160]. Ilyen nagymértékű átfertőzöttség mellett érdekes a betegség ritka megjelenése. A BKPyV és JCPyV reaktivációja immunszupprimált betegekben gyakori, ahogy a reaktivációjuk által okozott betegségek is jóval gyakrabban fordulnak elő, mint a TS. Feltételezhető, hogy a betegség kialakulásában az immunszuppresszió mellett más tényezők is szerepet játszhatnak. Több esetben igazolták, hogy a TSPyV primer fertőzésként okozza a betegséget [161, 162]. A szeropozitivitási adatok alapján a primer fertőzés jórészt gyermekkorban zajlik, a kamaszok körében már a felnőttekéhez hasonló az ellenanyag-pozitívak aránya [42, 74, 134, 158, 159, 163-165]. Ha nem a reaktiváció, hanem primer TSPyV fertőzés okozza a betegséget, az magyarázat lehet arra, miért ritka a betegség immunszupprimált felnőttek körében.

Kérdéses a vírus transzmissziója is. Felmerült a bőr a bőrrel kontaktus útján terjedés, amely esetén a bőr a behatolási kapu. Immunkompetens személyektől vett, elváltozást nem mutató bőrmintából a vírust nem vagy nagyon kevés mintában mutatták ki (0–1,7%) [149, 152]. Immunsupprimáltak bőrmintájában a DNS prevalencia magasabb volt (0,8–7,1%) [149, 152]. Keratosisból vett mintákban is detektálták a TSPyV DNS-ét [152]. A vírust kimutatták nasopharyngeális váladékból [58, 145], garatmandulából [163, 166], vérből [72, 123, 167], vizeletből [29], székletből [145] és liquorból is [145]. Primer TSPyV fertőzés miatt TS betegségben szenvedő esetekben igazolták a viraemiát, viruriát, a széklet és a liquor vírus pozitivitását [161], vagyis a disszeminált vírusfertőzést. A légúti terjedési módra utal a nasopharyngeális minták pozitivitása, és úgy tűnik, hogy a garatmandulában perzisztálhat a vírus.

Magyarországi TSPyV szero- és DNS prevalencia adatokkal nem rendelkezünk, az általa okozott kórképről sincs hazai adatunk.

3. CÉLKITŰZÉSEK

- I. Munkánk egyik célja volt tanulmányozni a KIPyV, WUPyV, MCPyV, HPyV6, HPyV7 és TSPyV szeroprevalenciáját immunkompetens gyermekek és felnőttek körében, amelyhez az alábbi vizsgálatokat terveztük:
- A vírusok VP1 fehérjének előállítását bakteriális fehérjeexpressziós rendszerben.
 - A vírusellenes IgG ellenanyagok kimutatását humán szérummintákból saját fejlesztésű ELISA módszerrel.
 - Az eredmények értékelését, a már publikált adatokkal összevetését.
- II. Másik célunk a KIPyV és WUPyV DNS prevalenciájának tanulmányozása volt légúti mintákban:
- A virális DNS jelenlétét gyermekektől és felnőttektől származó, nasopharyngeális mintákban real-time PCR módszerrel terveztük vizsgálni.
 - A COVID-19 pandémia alatt gyűjtött légúti mintákban a WUPyV és a KIPyV jelenlétének vizsgálatát terveztük tanulmányozva azt is, hogy társfertőzők-e a SARS-CoV-2 infekció során.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. SZEROPREVALENCIA VIZSGÁLATOK

4.1.1. Minták

Szeroprevalencia vizsgálatainkhoz 2016 és 2021 között gyermekektől és felnőttektől gyűjtöttük a szérummintákat, melyek a Debreceni Egyetem, Orvosi Mikrobiológiára érkeztek diagnosztikai vizsgálatokra. A vizsgálatból kizártuk azokat a szérumokat, amelyek olyan személyektől származtak, akik biológiai, kemo- vagy immunszuppresszáns terápiaiban részesültek, az elmúlt 1 év során vérkészítményt kaptak, vagy az immunstátuszt befolyásoló alapbetegséggel rendelkeznek. A szérumokat felhasználásig -20 °C-on tároltuk. A kutatást a Debreceni Egyetem Klinika Központ Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága hagyta jóvá (az etikai engedélyek számai: DE RKEB/IKEB: 5134-2018, DE RKEB/IKEB: 5770-2021). A szérumokat anonim módon használtuk. A nemek minden vizsgálati csoport esetében közel azonos arányban reprezentáltak.

A KIPyV szeroprevalenciájának vizsgálata 692, míg a WUPyV esetén 705 szérum felhasználásával történt. A mintaállományok csak részben átfedőek, a közös minta 494 szérum volt. A vizsgált alanyokat életkoruk alapján csoportokba rendeztük, a részletes adatokat a **2. táblázat** tartalmazza.

2. táblázat: A KIPyV és WUPyV szeroprevalencia vizsgálathoz használt minták adatai

Korcsoportok	KIPyV			WUPyV		
	Mintaszám	Életkor, min-max (medián)	Nő/Férfi	Mintaszám	Életkor, min-max (medián)	Nő/Férfi
0,7–1 év	20	0,7–1,9 év (1,3)	7/13	22	0,7–1,9 év (1,4)	8/14
2–5 év	82	2,1–5,9 év (3,5)	34/48	88	2,1–5,9 év (3,4)	36/52
6–9 év	67	6,1–9,9 év (7,6)	33/34	68	6,1–9,9 év (7,5)	33/35
10–13 év	67	10,1–13,9 év (11,8)	34/33	96	10,1–13,9 év (11,9)	52/44
14–20 év	105	14–20,9 év (16)	59/46	114	14–20,9 év (16)	66/48
21–39 év	101	21–39,6 év (31)	48/53	92	21–39,6 év (31,6)	42/50
40–59 év	125	40–59,5 év (50)	64/61	116	40–59,5 év (50)	59/57
>60 év	125	60–92 év (72)	64/61	109	60–92 év (70,1)	57/52

Összesen	692	0,7–92 év (21,9)	343/349	705	0,7–92 év (16,8)	353/352
Felnőttek	367	18–92 év (50,2)	187/180	332	18–92 év (50,1)	168/164
Gyerekek (<18 év)	325	0,7–17,9 év (9,6)	156/169	373	0,7–17,9 év (7,9)	185/188

Az MCPyV, HPyV6, HPyV7 és TSPyV szeroprevalencia vizsgálatokat azonos mintaállománnyal, vírusonként 552 mintával végeztük. Mintáinkat a **3. táblázatban** bemutatott módon hét korcsoportba rendeztük.

3. táblázat: Bőrbetegséghez köthető polyomavírusok szeroprevalencia vizsgálataihoz használt minták adatai

Korcsoportok	Mintaszám	Életkor, min-max (medián)	Nő/Férfi
<6 év	38	0,8–5,9 év (2,8)	15/23
6–9 év	36	6,1–9,9 év (7,6)	19/17
10–13 év	45	10,1–13,9 év (11,7)	22/23
14–20 év	87	14–20 év (16)	47/40
21–39 év	114	21–39,5 év (30,8)	57/57
40–59 év	128	40–59,5 év (50)	66/62
>60 év	104	60–85 év (69)	57/47
Összesen	552	0,8–85 év (33)	283/269
Felnőttek	359	18–85 év (47,3)	187/172
Gyerekek (<18 év)	193	0,8–17,9 év (11,7)	96/97

4.1.2. Rekombináns fehérjék előállítása és tisztítása

4.1.2.1. VP1 expressziós plazmidok előállítása

Az N-terminálisan 6xHis taggal ellátott, polyomavírus VP1 fehérjét kódoló gént szintetizáltattuk (GeneArt Strings DNA Fragments, Thermo Fisher Scientific). Ehhez minden esetben a referencia szekvenciákat választottuk: a KIPyV Stockholm 60 törzset (GenBank azonosító: NC_009238.1); a WUPyV B0 törzset (GenBank azonosító: EF444549.1); az MCPyV R17b-t (GenBank azonosító: NC_010277); a HPyV6 (GenBank azonosító: NC_014406); HPyV7 (GenBank azonosító: NC_014407); és

TSPyV (GenBank azonosító: NC_014361) referencia szekvenciákat. A KIPyV kivételével a szekvenciákat kodonoptimalizáltuk. A 6xHis tag és a fehérje közé egy három aminosavból (Ser-Ser-Gly) álló linkert kódoló szekvenciát illesztettünk, a szekvencia két végét restriktációs endonukleáz (NcoI, XhoI) hasítóhelyekkel láttuk el.

A pTriEx™-4 Neo (Novagen) vektort és az inzerteket is NcoI-HF és XhoI restriktációs endonukleázzal hasítottuk 10X CutSmart puffert tartalmazó reakcióelegyben (New England Biolabs Ltd.) a gyártó utasításai alapján. Az emésztett inzerteket Monarch PCR&DNA Cleanup Kittel (New England Biolabs) a reakcióelegyből közvetlenül tisztítottuk a gyártó utasításának megfelelően. A hasított plazmidot pedig 1%-os agaróz gélben (Sigma-Aldrich) gélelektroforézis után a gélből kivágtuk, majd Monarch DNA Gel Extraction Kittel (New England Biolabs) a gyártó utasítását követve tisztítottuk. Az inzert vektorba klónozását Rapid DNA Ligation Kittel (Thermo Fisher Scientific) végeztük a gyártói ajánlást követve.

A ligátumot TransformAid Bacterial Transformation Kittel (Thermo Fisher Scientific) *Escherichia coli* XL-1 Blue törzsébe (Agilent Technologies) transzformáltuk az alábbi lépések szerint:

- XL-1 Blue baktérium Lennox Luria Broth (LB) táptalajon (Sigma-Aldrich) egy éjszakán át tenyésztett, izolált telepeit steril kaccsal felvéve 1 mL C médiumban 2 órán át, 37 °C-on, 250 rpm-mel rázattuk.
- A felülúszót 1 perces, 10 000 g-vel történő centrifugálás után eltávolítottuk.
- A baktériumokat 300 µL T oldatban (1:1 arányban A és B oldatot tartalmaz) szuszpendáltuk, ezt 5 perc jégen történő inkubálás követte.
- A baktériumokat 1 percen át, 10 000 g-vel centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk. Ezt követően 120 µL T oldatban szuszpendáltuk a baktériumokat, majd 5 percig jégen inkubáltunk.
- 5 µL ligátumot 50 µL T oldatban inkubált baktériummal szuszpendáltuk, majd ismét 5 perc jégen inkubálás következett.
- A transzformált baktériumokat 100 µg/mL carbenicillint (Duchefa Biochemie) tartalmazó LB táptalajra szélesztettük, majd 37 °C-on, egy éjszakán át inkubáltunk.

Inkubálást követően, a carbenicillinre rezisztens, egyedi, izolált telepek közül néhány, általunk kiválasztott teleppel kolónia PCR-t végeztünk 20 µL végtérfigatban. A reakcióelegy 10 µL AmpliTaq Gold 360 master mixet (Thermo Fisher Scientific), 10

pmol reverse primert, 10 pmol forward primert és 8 µL nukleázmentes vizet tartalmazott. A primerek szekvenciáit, illetve a PCR reakció protokolljait a **4. táblázat** foglalja össze.

4. táblázat: *Kolónia PCR-hez használt primerek szekvenciái és a reakció körülményei*

Vírus	Primer neve	Szekvencia (5'-3')	Hőmérsékleti profil	
KIPyV	sz_KIPyV_VP1_1F	AGAAATTGCACCGCCTGATA	95 °C 10 p 95 °C 30 mp 59 °C 30 mp 72 °C 80 mp 72 °C 5 p } 35 ciklus	
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC		
WUPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA		95 °C 10 p 95 °C 30 mp 54 °C 30 mp 72 °C 41 mp 72 °C 5 p } 35 ciklus
	sz_WUPyV_VP1ex_1R	GAATACCTGCATTCAGAACCG		
MCPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA	95 °C 5 p 95 °C 30 mp 51 °C 30 mp 72 °C 53 mp 72 °C 5 p } 35ciklus	
	MCPyV R1	TTACGACCCAGAACGGTTTC		
HPyV6	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA		95 °C 5 p 95 °C 30 mp 51 °C 30 mp 72 °C 57 mp 72 °C 5 p } 35 ciklus
	HPyV6 R2	CGGTGTGGTGCTCTGATTAC		
HPyV7	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA	95 °C 5 p 95 °C 30 mp 51 °C 30 mp 72 °C 47 mp 72 °C 5 p } 35 ciklus	
	HPyV7 R1	CATCAGTATTGCCTGGACCTT		
TSPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA		95 °C 5 p 95 °C 30 mp 51 °C 30 mp 72 °C 41 mp 72 °C 5 p } 35 ciklus
	TS R1	GCGTTTGGTTGCCATATGAA		

A kolónia PCR mellett az adott telepéből a baktériumokat 2 mL folyékony, 100 µg/mL carbenicillint tartalmazó LB táptalajban 6 órán át, 37 °C-on 220 rpm-mel rázattuk. A kolónia PCR eredménye alapján az inzertet tartalmazó vektorral transzformált baktériumokat átoltottuk 15 mL friss, 100 µg/mL carbenicillint tartalmazó folyékony LB táptalajba. A baktériumok tenyésztése egy éjszakán át, 37 °C-on, 220 rpm-mel rázatva történt.

A baktériumokból a plazmid tisztítását PureLink™ HiPure Plasmid Midiprep Kittel (Thermo Fisher Scientific) végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. Az inzert szekvenciáját, megfelelő irányultságát Sanger szekvenálással ellenőriztük, amelyhez az **5. táblázatban** feltüntetett primereket használtuk.

5. táblázat: A Sanger szekvenáláshoz használt primerek szekvenciái

Vírus	Primer neve	Szekvencia (5'-3')
KIPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	sz_KIPyV_VP1_1F	AGAAATTGCACCGCCTGATA
	sz_KIPyV_VP1_1R	AACCAGCAGTTCGGTTTCC
WUPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	sz_WUPyV_VP1ex_1F	TCCGAATCAGGTTAGCGAAT
	sz_WUPyV_VP1ex_1R	GAATACCTGCATTCAGAACCG
MCPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	MCPyV F1	GCCGATGCTGAATGAAGATA
	MCPyV F2	GCCGTTATTATGGTAGCATCC
	MCPyV R1	TTACGACCCAGAACGGTTTC
	MCPyV R2	CAGTGCCATTTTACCGCTG
HPyV6	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	HPyV6 F1	GGTCCGAGCAAAGAAAATCA
	HPyV6 F2	TGATGTTTCGTCAGTTTCTGC
	HPyV6 R1	GCACCACGGCTCTGATAAAC
	HPyV6 R2	CGGTGTGGTGTCTGATTAC
	HPyV6 R3	CGGCTGCATTTGTTCCATA
HPyV7	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	HPyV7 F1	CTATTTGCTCCACAAATGGC
	HPyV7 F2	GCAGTGTGTATCTTACCAGTGCT
	HPyV7 R1	CATCAGTATTGCCTGGACCTT
	HPyV7 R2	GGGGCTGCAGAACTGTCTA
HPyV7	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	HPyV7 F1	CTATTTGCTCCACAAATGGC
	HPyV7 F2	GCAGTGTGTATCTTACCAGTGCT
	HPyV7 R1	CATCAGTATTGCCTGGACCTT
	HPyV7 R2	GGGGCTGCAGAACTGTCTA
TSPyV	TriEx UP	GTTATTGTGCTGTCTCATCA
	Triex_R_seq	TCACATTGCCAAAAGACGGC
	TS F1	AATACCCTGACCATGTGGGA
	TS F2	CCGTTTCTGCAGTTTACCAA
	TS R1	GCGTTTGGTTGCCATATGAA
	TS R2	TCACAACAGCTAACATACAGACCA

A szekvenálás a Genomi Medicina és Bioinformatikai Szolgáltató Laboratóriumban zajlott szolgáltatásként ABI SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) készüléssel, BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kittel (Thermo Fisher Scientific). A szekvencia alignmentet AliView szoftverrel végeztük.

4.1.2.2. Bakteriális fehérjeexpresszió

A VP1 fehérjék expresszióját *Escherichia coli* Origami™ B(DE3)pLacI (Novagen) kompetens baktériumban végeztük, kivéve a nem kodonoptimalizált KIPyV VP1 fehérjéjét, amelyet *Escherichia coli* Rosetta-gami™ B(DE3)pLacI (Novagen) kompetens baktériumban termeltettünk. A baktériumokat minden esetben 10 ng plazmiddal (pTriEx™-4 Neo vektor polyomavírus VP1 gént inzerttel) transzformáltuk a fent leírtak szerint TransformAid Bacterial Transformation Kittel. A transzformált baktériumokat szilárd, 1% glükózt (Sigma-Aldrich), 100 µg/µL carbenicillint, 15 µg/mL kanamycint (Merck Millipore), 34 µg/mL chloramphenicol (Merck Millipore) és 12,5 µg/mL tetracyclint (Merck Millipore) tartalmazó LB táptalajra szélesztettük, majd 37 °C-on 16 órán át inkubáltuk.

A kinőtt, egyedi telepet 5 mL 1% glükózt, 100 µg/µL carbenicillint, 15 µg/µL kanamycint, 34 µg/µL chloramphenicol és 12,5 µg/µL tetracyclint tartalmazó folyékony táptalajba oltottunk, majd 14 órán át, 37 °C-on, 220 rpm-mel rázatva szaporítottunk. Az inkubációs idő letelte után az előtenyészetből 2 mL-t 98 mL 100 µg/µL ampicillint (Antibiotice) tartalmazó, folyékony LB táptalajba oltottunk, majd 4 órán át, 37 °C-on, 220 rpm-mel ráztuk (OD600= ~0,5). A fehérjetermelést 0,5 mM IPTG (izopropil-β-D-1-thiogalaktopiranozid, Thermo Fisher Scientific) hozzáadásával indukáltuk. Ezt követően 37 °C-on, 3 órán át, 220 rpm-mel ráztuk a tenyészeteket. A felülúszó eltávolítása centrifugálással történt (4000 g, 15 perc, 4 °C-on). Az üledéket, azaz a baktériumok nedves tömegét lemértük, majd a fehérje tisztításáig -20 °C-on tároltuk.

4.1.2.3. A VP1 fehérje tisztítása

Előkísérleteink során megállapítottuk, hogy az expresszálatott fehérjék döntően inklúziós testekben találhatóak. A VP1 fehérjék tisztítása ezért denaturáló körülmények között, a 6xHis tag segítségével, affinitás kromatográfiával (Protino NI-TED Packed

Columns, Macherey Nagel) történt. A tisztítás során a gyártói utasításokat követtük kisebb módosításokkal. A baktériumokat grammonként 5 mL 1X LEW puffert, proteáz inhibitor tablettát (cOmplete, Mini, EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail, Roche), 1 mM PMSF-et (phenylmethylsulfonyl fluoride), 1 mM lizozimet tartalmazó lízis pufferrel lizáltuk. KIPyV és WUPyV VP1 esetében a lízis puffer 1% Triton X-et és 5% glicerint is tartalmazott. Tíz perc jégen történő inkubálást követően 4 µL nukleázt (Pierce Universal Nuclease for Cell Lysis, Thermo Fisher Scientific) mértünk az elegyhez. Húsz perc múlva szuszpendáltuk, amit centrifugálás követett (10 000 g, 30 perc, 4 °C). Az inklúziós testeket denaturáló oldatban vettük fel, melynek összetétele a következő volt: 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 8M urea, 100 mg/mL PMSF, proteáz inhibitor tableta (pH 8). A denaturálást 60 percig jégen, folyamatos, óvatos keverés mellett végeztük, majd a be nem oldódott anyagokat centrifugálással távolítottuk el (10 000 g, 30 perc, 20 °C).

A VP1 fehérjéket a denaturáló oldattal ekvibrált oszlopra mértük. A kikötődött fehérjéket kétszer mostuk denaturáló oldattal, majd 2 M ureát tartalmazó eluáló pufferrel oldottuk le. Az eluáló puffert a következők szerint állítottuk össze: 50 mM NaH₂PO₄, 300 mM NaCl, 2M urea, 250 mM imidazol.

A fehérjék renaturálását, az urea eltávolítását dialízissel, csökkenő urea koncentrációjú, majd ureamentes pufferben (PBS, foszfát puffer) végeztük 1 napig. Ehhez dializáló kazettát (Slide-A-Lyzer Dialysis Cassettes, gamma-irradiated, 10 kDa) alkalmaztunk. A fehérjekoncentráció meghatározása BCA assay-vel (Pierce BCA Protein Assay Kits, Thermo Fisher Scientific) történt a gyártói utasítást követve. Szükség esetén a fehérjét Amicon Ultracentrifugal Filter (Sigma-Aldrich) segítségével koncentráltuk. A tisztított fehérjéket felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

4.1.2.4. Antigén minőségi analízise

A tisztított VP1 fehérjék minőségének ellenőrzése SDS-poliakrilamid gélelektroforézist követő Coomassie Brilliant Blue festéssel, illetve Western blottal történt. Az SDS-poliakrilamid gélelektroforézis 12%-os SDS-poliakrilamid gélben történt Bio-Rad Mini Protean II készülék segítségével. A mintákat Laemmli pufferben (Sigma-Aldrich) denaturáltuk 95 °C-on 5 percig. A fehérjék molekulatömegének meghatározásához Page Ruler fehérje létrát (Prestained Protein Ladder, 10-180 kDa, Thermo Fisher Scientific) használtunk.

Elektroforézist követően a fehérjéket tartalmazó gélt 50% metanolt és 10% esetsavat tartalmazó oldatban fixáltuk 1 órán át, szobahőmérsékleten billegtetve. Ezt követően festő

oldattal (0,1% Coomassie Brilliant Blue R-250, 50% metanol, 10% ecetsav) festettük 45 percen keresztül szobahőmérsékleten. A gél színtelenítéséhez 40% metanolt és 10% jégecet tartalmazó festékkivonó oldatot használtunk. A gél fotózása 5%-os jégecet oldatban történt.

A gélelektroforézist követő Western blot során PVDF (polivinilidén-fluorid) membránra (Immobilon-E Transfer Membrane, Merck) transzferáltuk a fehérjéket Mini Trans-Blot (Bio-Rad) készülék segítségével, transzfer pufferben (10% metanol, 25 mM Tris-base, 192 mM glicin), 90V-on, 1 óra alatt. A membránon az aspecifikus kötések blokkolását 5% tejport (Sigma-Aldrich) tartalmazó TBST (tris pufferelt sóoldat + 0,05% Tween-20) pufferrel végeztük 1 órán át. A membránt egy éjszakán át, 4 °C-on inkubáltuk a primer antitesttel (REF: MA1-21315, LOT: UJ287597, 6xHis tag elleni, egér, 1:5000 hígítás, Thermo Fisher Scientific), melyet 5%-os tejporban oldottunk be. A 3x5 perces, TBST-vel történő mosás után a membránt 5% tejport tartalmazó TBST-ben oldott másodlagos antitesttel (REF: A28177, LOT: 2812147, 1:30000 hígításban, anti-egér, kecskében termelt, HRP konjugált, Thermo Fisher Scientific) inkubáltuk szobahőmérsékleten, 1 órán át. A membránt ezt követően 3x5 percig TBST-vel mostuk. Az immunreakció detektáláshoz Immobilon ECL Ultra Western HRP (Merck Millipore) reagenst használtunk, a detektálást ChemiDoc MP Imaging System készülékkel (Bio-Rad) végeztük.

4.1.3. ELISA

A VP1 fehérjék elleni IgG antitestek detektáláshoz indirekt, kolorimetriás ELISA módszert fejlesztettünk. Optimalizáltuk a kikötött antigén mennyiségét, a blokkoló oldat összetételét, a blokkolás hőmérsékletét, időtartamát, a mosóoldat összetételét, a mosási lépéseket, a szérum hígítási mértékét, a szérummal való inkubálás hőmérsékletét, időtartamát, a szekunder antitest mennyiségét, az ellenanyaggal történő inkubálás hőmérsékletét, időtartamát, valamint a szubsztrátummal történő inkubálás időtartamát.

Méréseinket az elvégzett kísérletek után az alábbi módon végeztük:

- A reakcióhoz 96 lyukú, lapos aljú, immunreakcióra alkalmas, műanyag mikrolemezt (MaxiSorp Clear Flat-Bottom Immuno Nonsterile 96-Well Plate, Nunc) használtunk.

- Az antigén kikötése 16 órán át, 4 °C-on zajlott lyukanként 100 µL PBS-ben (Coating Buffer, pH 7,4, Thermo Fisher Scientific) 50 ng VP1 fehérjével; kivételt képez a KIPyV ELISA, amely során 100 ng VP1 fehérjét kötöttünk ki.
- Az inkubáció letelte után a lyukakat 3x mostuk 300 µL PBS-sel (pH 7,4).
- A blokkolást 300 µL blokkoló oldattal (2% kazein PBS-ben) végeztük 1 órán keresztül 37 °C-on.
- Ezt háromszori PBS-sel történő mosás követte.
- A szérummintákat 1:100 arányban blokkoló oldatban hígítottuk, majd 100 µL-t a lyukakba mérve 1 órán át 37 °C-on inkubáltuk.
- A lemezt 3x mostuk, lyukanként 300 µL mosó oldattal (PBS+0,05% Tween-20, eBioscience™ ELISA Wash Buffer, Thermo Fisher Scientific).
- A 100 µL másodlagos antitest (REF: A18829, LOT: 95-14-052722, 1:10000 arányban blokkoló oldatban hígított anti-humán, egér, HRP konjugált, Thermo Fisher Scientific) bemérése után 1 órán keresztül 37 °C-on inkubáltunk.
- Ezt követően a lemezeket 3x mostuk lyukanként 300 µL mosó oldattal.
- Szubsztrátként 100 µL TMB-t (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin) mértünk be, majd sötétben inkubáltunk szobahőmérsékleten 15 percen át.
- A reakció leállításához 100 µL STOP oldatot (1M kénsav) mértünk minden lyukba.

Az optikai denzitást (OD) 450 nm-en mértük MultiSkan Sky Microplate spektrofotométerrel (Thermo Fisher Scientific), majd a kapott eredményeket a 620 nm-en mért értékekkel korrigáltuk. Az ELISA méréseinket minden szérumminta esetében duplikátumban végeztük el. Az OD értékek meghatározásához az ELISA vizsgálatok során mért OD értékekből kivontuk a vak értékét, a duplikátumok eredményét átlagoltuk. Az OD értékeket növekvő sorrendbe rendeztük, majd a legjobb determinációs együtthatóval (r^2) rendelkező trendvonalat illesztettünk rá. Az így kapott függvény alapján inflexiós pontot számítottunk, amely az ELISA cut-off értéke. Azokat a mintákat tekintettük szeropozitívnak, amelyek OD értéke >cut-off+10% volt.

4.2. DNS PREVALENCIA VIZSGÁLATOK

4.2.1. KIPyV és WUPyV DNS prevalencia vizsgálatához használt légúti minták

A KIPyV és WUPyV DNS prevalenciájának tanulmányozására a 2020 augusztusától 2021 áprilisáig, valamint a 2021 októberében SARS-CoV-2 PCR vizsgálatra a Debreceni Egyetem Orvosi Mikrobiológiára érkezett orrgaratminták nukleinsavát használtuk fel. A vizsgálatba csak olyan mintákat vontunk be, amelyek esetében a nukleinsav izolálása megfelelőnek bizonyult a SARS-CoV-2 PCR amplifikációs, izolálási kontrollja alapján. Összesen 1030 nukleinsavat gyűjtöttünk, amelyek közül 680 SARS-CoV-2 RNS pozitív, míg 350 SARS-CoV-2 negatív betegről származott. A betegek adatait a **6. táblázat** foglalja össze.

6. táblázat: *KIPyV és WUPyV DNS prevalencia vizsgálatához használt nasopharyngeális minták adatai*

	Mintaszám	Életkor, min-max (medián)	Gyerek/Felnőtt	Nő/Férfi
SARS-CoV-2 PCR pozitív	680	0,1-94,2 év (35,7)	202/478	353/327
SARS-CoV-2 PCR negatív	350	0-94,1 év (48,9)	148/202	174/176
Összesen	1030	0-94,2 év (38,1)	350/680	527/503

4.2.2. A nukleinsav izolálása

Az orrgaratmintákból a nukleinsav izolálása MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kittel (Roche) vagy Chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (PerkinElmer) Kit segítségével a gyártó utasításai alapján történt. A SARS-CoV-2 nukleinsav kimutatása a ViroReal® Kit SARS-CoV-2 & SARS (Ingenetix) vagy a SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent Kit (PerkinElmer) felhasználásával az ajánlott protokoll alapján történt. A nukleinsav izolálását az Orvosi Mikrobiológia végezte, vizsgálatainkhoz a nukleinsavat gyűjtöttük, felhasználásig -20 °C-on tároltuk.

4.2.3. Real-time PCR

A KI és WU polyomavírusok DNS-ének kimutatásához kutatócsoportunk korábbi vizsgálataiban is használt [49, 55, 57, 69], a KIPyV VP2-3, valamint a WUPyV VP1 régiójára tervezett primereket és próbát alkalmaztuk [168]. A PCR-t 50 µL végtérfogatban, QuantStudio 5 (Applied Biosystems) készülékben végeztük a következők

szerint: 10 µL templát nukleinsav, 500-500 nM forward és reverse primer, 200 nM próba, 25 µL 2X TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems). A primerek és próbák szekvenciáit a **7. táblázat** tartalmazza. A pozitív kontrollként szolgáló, KIPyV és WUPyV megfelelő virális régióját inzertként tartalmazó plazmidokat Tobias Allander (Karolinska Intézet, Stockholm, Svédország) és David Wang (Washington Egyetem, St. Louis, Miss., USA) hozzájárulásával használtuk fel.

7. táblázat: *A multiplex real-time PCR-hez használt VP1 primerek és próbák szekvenciái, a reakció körülményei*

	Primerek	Szekvencia (5'-3')	PCR reakció
KIPyV	KIPyV VP2-3F	CTATCCCTGAATACCAGTTGGAAAC	50 °C 2 p 95 °C 10 p 95 °C 15 mp } 45ciklus 60 °C 1 p
	KIPyV VP2-3R	GTATGACGCGACAAGGTTGAAG	
	KIPyV VP2-3 probe	FAM-TTCCGGGCATCCCAGACTGGC	
WUPyV	WUPyV VP1F	AACCAGGAAGGTCACCAAGAAG	A fluoreszcens jel detektálása minden ciklusban 60 °C-on történt.
	WUPyV VP1R	TCTACCCCTCCTTTTCTGACTTGT	
	WUPyV VP1 probe	NED-CAACCCACAAGAGTGCAAAGCCTTCC	

4.3. STATISZTIKAI VIZSGÁLATOK

A statisztikai vizsgálatokhoz Mann-Whitney U tesztet, Fisher-féle egzakt tesztet, χ^2 trend-tesztet, Spearman rank korrelációs analízist használtunk a GraphPad Prism 9.4.0 szoftver segítségével (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). A különbséget szignifikánsnak tekintettük, ha $p < 0,05$.

4.4. NEM ÖNÁLLÓAN VÉGZETT MUNKÁK, METODIKÁK

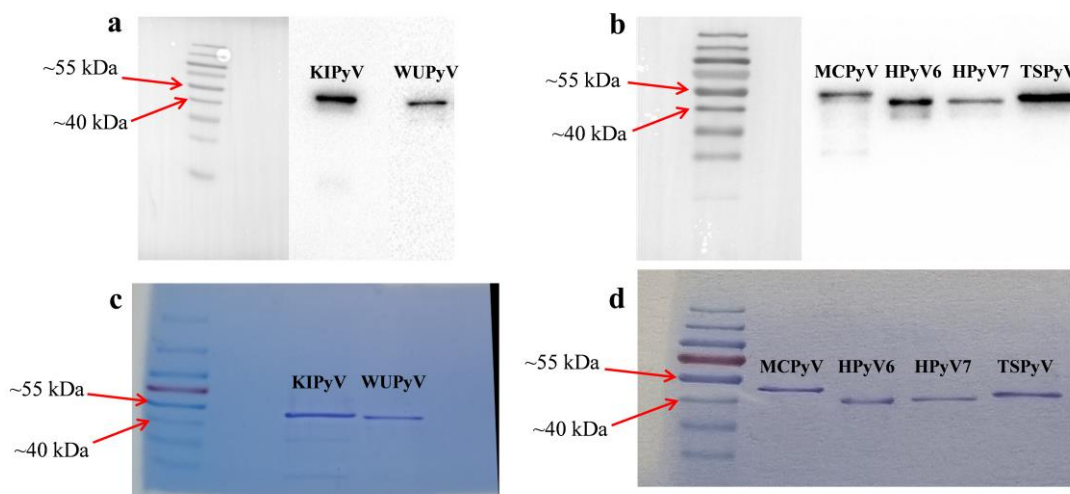
- ELISA módszer fejlesztése és optimalizálása: témavezetői útmutatás alapján végeztem.
- ELISA (WUPyV és KIPyV VP1 fehérjével): a ~ 15 000 ELISA mérés mintegy 30%-ának kivitelezésében Katona Melinda segítkezett.
- PCR reakciók: a SARS-CoV-2 PCR-eket Csoma Eszter végezte; a WUPyV és KIPyV PCR-ek harmadát Katona Melinda végezte.
- Szeroprevalencia eredmények kiértékelése: a cut-off érték meghatározását témavezetővel közösen végeztem.

5. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

5.1. A VP1 fehérjék minőségi és mennyiségi vizsgálata

Minden tanulmányozott vírus esetében a VP1 fehérjéket az ELISA módszerhez megfelelőnek ítéltük a Coomassie Brilliant Blue festés és a Western blot eredményei alapján (**6. ábra**).

6. ábra: A VP1 fehérjék minőségi vizsgálatának eredményei



A ábra felső részén (**a és b**) a Western blot eredményei, míg az alsó részen (**c és d**) a Coomassie Brilliant Blue festett VP1 fehérjék láthatók. A blot vizsgálatkor a fehérje létra fotója fehér fényel történő megvilágítással készült. A vizsgált VP1 fehérjéket az elvégzett immunreakciók után kemilumineszcens reagens segítségével detektáltuk. A tanulmányozott polyomavírusok VP1 fehérjéjének molekulatömegei a következők: KIPyV: ~42 kDa, WUPyV: ~41 kDa, MCPyV: ~47 kDa, HPyV6: ~42 kDa, HPyV7: ~42 kDa, TSPyV: ~43 kDa. A molekulatömeg becsléséhez Page Ruler fehérje létrát (10–180 kDa) használtunk. kDa: kilodalton

5.2. Az ELISA vizsgálatok specificitása

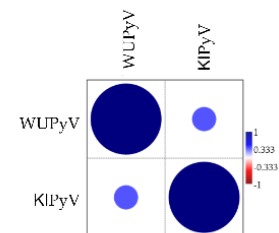
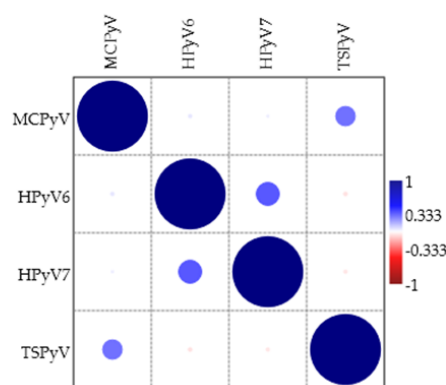
A KIPyV és a WUPyV azonos nemzetségbe tartoznak, VP1 fehérjék szekvenciája 65%-ban azonos [41]. A szintén azonos nemzetségbe tartozó MCPyV és TSPyV VP1 fehérjéjének szekvenciája 57%-ban megegyezik [107]. A HPyV6 és a HPyV7 VP1 fehérjéje 69%-ban egyező [133]. Felmerül, hogy a VP1 ellen termelődő ellenanyagok keresztreakálhatnak, nem kellően specifikus szerológiai tesztek esetén az eredmények kétségesek lehetnek. A KIPyV és WUPyV szerológiai vizsgálatához használt mintaállomány részben átfedő volt, így a mindkét teszttel vizsgált minták OD értékeit

korrelációanalízisnek vetettük alá. Az MCPyV, HPyV6, HPyV7 és TSPyV ELISA vizsgálatok ugyanazokkal a mintákkal történtek, így a mért OD értékek korrelációanalízisét ez esetben is elvégeztük. Az eredményeket a **7. ábra** mutatja.

7. ábra: Szeroreaktivitások korrelációja a vizsgált polyomavírusok közt

	MCPyV	HPyV6	HPyV7	TSPyV
MCPyV	1	0.45971	0.6341	<0.0001
HPyV6	0.04641	1	<0.0001	0.3979
HPyV7	0.029887	0.32591	1	0.46146
TSPyV	0.27731	-0.053058	-0.04623	1

	WUPyV	KIPyV
WUPyV	1	<0.0001
KIPyV	0.3352	1



Spearman-féle rangkorreláció analízis. A táblázatok bal oldali, alsó háromszöge az ELISA vizsgálatokban mért OD értékek korrelációs együtthatóit (r érték), míg a jobb oldali, felső háromszög a p értékeket mutatja. A hő térképek a korrelációs együttható PAST szoftverrel készített, grafikus ábrázolásai.

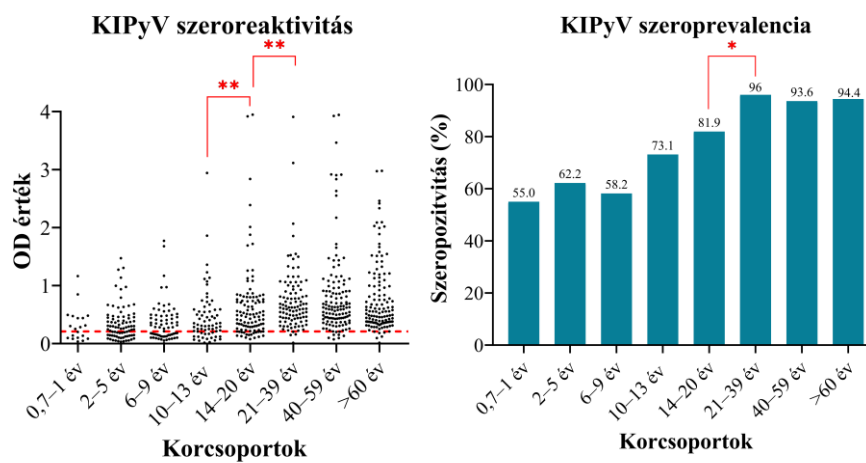
A korrelációanalízis alapján ugyan szignifikáns, de mérsékelt a korreláció ($r=0,335$, $p<0,0001$) a KIPyV és WUPyV OD értékek közt. Hasonlóan mérsékelt, szignifikáns korrelációt ($r=0,326$, $p<0,0001$) tapasztaltunk a HPyV6 és HPyV7 OD értékei között is. Az MCPyV és a TSPyV esetén a korreláció alacsony, ám szignifikáns volt ($r=0,277$, $p<0,0001$). A nem azonos genusba tartozó polyomavírusok esetén a mért szeroreaktivitási értékek nem mutattak korrelációt. Más kutatócsoportok is publikáltak szignifikáns, de gyenge korrelációt [159, 169-171]. Néhány kiválasztott mintával gyakorlatban is megvizsgáltuk az esetleges keresztreakciót. A szérummintákat előinkubáltuk 1000 ng homológ vagy heterológ fehérjével, majd elvégeztük az ELISA mérést. A homológ fehérjékkel történő előinkubálás után a szérumok szeronegatívvá váltak, míg a heterológ fehérjéknek nem volt ilyen hatása. Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy ELISA vizsgálataink kellően specifikusak voltak a vizsgált vírusokra.

5.3. KI polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat

Az ELISA vizsgálatokat 692 szérummintával végeztük. A módszertani részben leírtak szerint meghatároztuk a cut-off értéket. Szeropozitívnak azokat a mintákat tekintettük, amelyek OD értéke $>0,21$.

A szeroreaktivitás (**8. ábra**) statisztikailag igazolható növekedését, azaz az OD értékek közt szignifikáns eltérést a 10–13 és 14–20 ($p=0,01$), valamint a 14–20 és 21–39 évesek között tapasztaltunk ($p=0,005$).

8. ábra: KIPyV szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



A szeroreaktivitás ábrán minden fekete pont egy szérumminta átlagolt OD értékét reprezentálja. Piros, szaggatott vonal jelzi a szeropozitivitási határértéket. A statisztikai analízist Mann-Whitney U teszttel végeztük. A szeroprevalencia tanulmányozásához a statisztikai vizsgálatot Fisher egzakt teszttel végeztük. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi az alábbiak szerint: *= $p\leq 0,05$; **= $p\leq 0,01$. OD: optikai denzitás

A szeroprevalenciát, azaz a szeropozitív minták arányát az egyes korcsoportokban a **8. ábra** mutatja. Méréseink alapján a KIPyV szeroprevalenciája a teljes vizsgálati populációban 82,1% volt. A felnőttek (<18 évesek) 93,7%-a rendelkezett vírusellenes ellenanyaggal, azonban már a gyermekek (<18 évesek) körében is 68,9%-os szeropozitivitást állapítottunk meg. A fertőzésen már átesettek életkora szignifikánsan magasabbnak bizonyult a szeronegatívak életkorához képest a gyermekek körében ($p=0,0002$), valamint a teljes populációban ($p=0,0005$). Ilyen eltérés a felnőttek közt már nem volt. Nemi különbségeket nem tártunk fel.

Négy korábbi vizsgálat eredményeit [41-43, 108] megerősítve úgy tapasztaltuk, hogy a primer fertőzések jelentős része kisgyermekkorban történhet, mivel a legfiatalabb, két

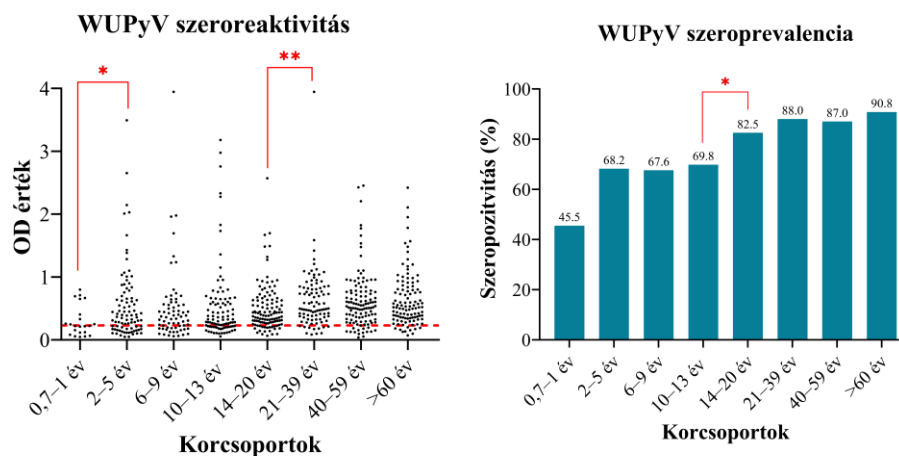
év alatti gyermekek körében már 55%-os átfertőzöttségi rátát detektáltunk. A szeropozitívak aránya ezt követően az életkorral növekvő, amit a χ^2 trend teszt is igazolt ($p < 0,0001$). Statisztikailag szignifikáns szeropozitivitásbeli növekedést ($p = 0,015$) a 14–20 és 21–39 éves korcsoportok között tapasztaltunk, ami összhangban áll a szeroreaktivitási eredményekkel is. A legmagasabb, 96%-os szeropozitivitást a 21–39 évesek körében detektáltunk. Idősebbek közt csak kissé, de statisztikailag nem szignifikánsan volt alacsonyabb az ellenanyag-pozitívak aránya. Mindezek összhangban állnak a magasabb felnőttkori szeroprevalenciát közlő tanulmányok eredményeivel [44, 73, 110, 148, 172, 173]. Eredményeink alapján a KIPyV ubiquiter vírus, a populáció nagy része hazánkban is átesik a fertőzésen.

5.4. WU polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat

A WUPyV szeroprevalenciájának vizsgálatát 705 szérumminta felhasználásával végeztük. Szeropozitívoknak azokat a mintákat tekintettük, melyek OD értéke $> 0,23$ volt.

A vizsgált minták korcsoportonkénti szeroreaktivitását a **9. ábra** ismerteti. Az OD értékekben szignifikáns növekedést állapítottunk meg a 0,7–1 és 2–5 évesek ($p = 0,03$), illetve a 14–20 és 21–39 évesek között ($p = 0,004$).

9. ábra: WUPyV szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



A szeroreaktivitás ábrán minden fekete pont egy szérumminta átlagolt OD értékét reprezentálja. Piros, szaggatott vonal jelzi a szeropozitivitási határértéket. A statisztikai analízist Mann-Whitney U teszttel végeztük. A szeroprevalencia tanulmányozásánál a statisztikai vizsgálatot Fisher egzakt teszttel végeztük. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi az alábbiak szerint: *= $p \leq 0,05$; **= $p \leq 0,01$. OD: optikai denzitás

A WUPyV teljes populációra vonatkoztatott szeroprevalenciája 79,1% volt. A felnőttek (>18 évesek) 89,2%-a esett át a WUPyV fertőzésen, azonban a gyerekek (<18 évesek) körében is magas, 70,2%-os ellenanyag-pozitivitást tapasztaltunk. A szeronegátívak életkora szignifikánsan alacsonyabb volt a teljes vizsgált populációban ($p=0,02$) és a gyermekek körében is ($p=0,004$). A szeropozitivitási arány életkorral növekedését a χ^2 trend teszt a WUPyV esetében is igazolta ($p<0,0001$). A szeroprevalencia vizsgálat eredményeit a **9. ábra** szemlélteti.

Szeroprevalencia eredményeink alátámasztják a mások által publikáltakat, miszerint a populáció zöme gyerekkorában találkozik először a WU polyomavírussal [41-43, 134]. Már a 2 évesnél fiatalabbak 45%-a szeropozitív volt, a fertőzésen átesettek aránya a 6 évesek közt pedig már a 68%-ot is elérte. Eredményeink alapján a szeropozitivitási arányban változás, szignifikáns növekedés ($p=0,03$) kamaszkorban, illetve fiatal felnőttkorban (18–20 évesek) történt. A felnőttek körében kissé, de folyamatosan növekvő szeropozitivitási arányt figyeltünk meg, a legmagasabb, 90,8%-os szeroprevalencia értéket az idősek körében detektáltuk. Eredményeink alapján kijelenthető, hogy a WUPyV ubiquiter vírus hazánkban is, a populáció nagy része már gyerekkorában átesik a fertőzésen. A nemzetközi közleményekben fellelhető szeroprevalencia vizsgálatok eredményeivel saját adataink összhangban állnak [42, 43, 73, 110, 172, 173].

5.5. KI és WU polyomavírus DNS prevalencia légúti mintákban

A KI és WU polyomavírusok DNS prevalenciájának vizsgálatát a COVID-19 világitörvény alatt vizsgáltuk 1030 orrgaratváladékban. Kíváncsiak voltunk, hogy SARS-CoV-2 fertőzöttekben a polyomavírusok társfertőzőként jelen vannak-e, ha igen, van-e hatásuk a betegségre, a SARS-CoV-2 fertőzésre. A minták közül 680 SARS-CoV-2 RNS pozitív, míg 350 SARS-CoV-2 RNS negatív volt.

KIPyV DNS-t összesen 5 esetben, a minták 0,49%-ában detektáltunk. Ezek közül két minta SARS-CoV-2 RNS pozitív (2/680, 0,29%), három pedig SARS-CoV-2 RNS negatív volt (3/350, 0,86%). Valamennyi minta felnőttéktől származott. A KIPyV DNS mennyisége a mintákban <250 és $6,9 \times 10^4$ kópai/mL közti volt. WUPyV DNS-t két mintában mutattuk ki, a prevalencia 0,19% (2/1030). Az egyik minta SARS-CoV-2 fertőzött felnőttéktől, a másik minta pedig gyermektől származott, akinek légúti mintája SARS-CoV-2 RNS negatív volt. Mindkét mintában <250 kópia/mL WUPyV DNS-t detektáltunk. A multiplex real-time PCR eredményeit a **8. táblázat** foglalja össze.

8. táblázat: A KIPyV/WUPyV DNS prevalencia a vizsgált légúti mintákban

	SARS-CoV-2 pozitívak			SARS-CoV-2 negatívak		
	Mintaszám	Életkor	Nő/Férfi	Mintaszám	Életkor	Nő/Férfi
KIPyV DNS pozitív	2/680 (0,29%)	26,6 év, 72,8 év	1/1	3/350 (0,86%)	18,3 év, 50,1 év, 72,8 év	3/0
WUPyV DNS pozitív	1/680 (0,15%)	36,2 év	1/0	1/350 (0,29%)	3,7 év	1/0

Az alacsony polyomavírus prevalencia és virális DNS mennyiségek miatt további kórokozók jelenlétét nem vizsgáltuk.

A felnőttekre számított prevalencia eredmények, a 0,74% (5/680) KIPyV és 0,15% (1/680) WUPyV DNS pozitivitási arányok nem térnek el jelentősen az immunkompetens felnőttek körében más munkacsoportok és korábban általunk is mért értékektől [55, 57, 69, 174, 175]. Érdekes viszont, hogy gyermekek légúti mintáiból KIPyV-et nem, WUPyV DNS-t pedig mindössze egy esetben detektáltunk, a DNS prevalencia 0,29%. A munkacsoport 2016-ban gyermekek légúti mintáinak 5%-ában WUPyV DNS-t, 1,7%-ában pedig KIPyV DNS-t mutatott ki [69].

A polyomavírus DNS jelenléte és a SARS-CoV-2 RNS pozitivitás közt nem találtunk összefüggést. Eredményeink jelentősen eltértek egy olasz munkacsoport által publikált adatoktól. Ők ugyan a SARS-CoV-2 negatív személyek légúti mintáiban nem mutatták ki egyik vírust sem, viszont a SARS-CoV-2 fertőzött felnőttek magas, 24,1%-os KIPyV és 4,5%-os WUPyV koinfekciójáról számoltak be. Gyermekeket nem vizsgáltak [50]. Felmerül, hogy mi okozhatja az olasz kutatócsoportétól eltérő eredményeinket. A magyarázat lehetne metodikai különbség, azonban sok hasonló lépés mellett azonos PCR módszerrel végeztük a vizsgálatot. Lehet az ok az eltérő mintatípus, mi nasopharyngeális mintákat, a másik kutatócsoport pedig oropharyngeális mintatípust vizsgált. Korábban azonban mi is torokváladék mintákkal dolgoztunk [69], illetve más kutatócsoportok mindkét polyomavírust mindkét mintatípusból sikeresen kimutatták [40, 46, 174-177], így vélhetően a minta típusa nem okozhatta az eltérő eredményeket. Immunszupprimált betegekben a KIPyV és WUPyV prevalencia is magasabb, azonban sem a saját, sem az olasz tanulmány esetén nem ismert a vizsgálatban résztvevők pontos immunológiai státusza. Fontos megjegyezni, hogy az olasz munkacsoport a világjárvány elején gyűjtötte a PCR vizsgálatokhoz használt mintákat, akkor, amikor a korlátozó intézkedéseket Olaszországban éppen bevezették (2020 márciusa és 2020 májusa közt). Ezzel ellentétben mi 2020 őszétől gyűjtöttük a mintákat, a hosszú, kijárási tilalmak, társadalmi

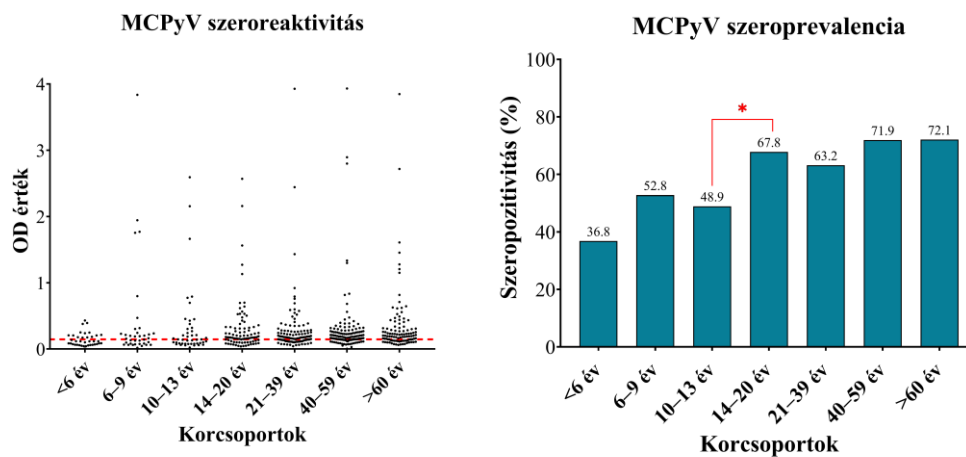
érintkezéseket jelentősen korlátozó intézkedések, iskolai és óvodai bezárások után és között. Nemzetközi, irodalmi adatok is alátámasztották, hogy a korlátozó intézkedések bevezetése számos légúti vírusfertőzés terjedését szorította vissza [178, 179]. Mivel a KIPyV és WUPyV valószínűleg a légutak váladékaival ürül és terjed, így feltételezéseink szerint a világvárvány idején ezeknek a vírusoknak a terjedését is korlátozták a SARS-CoV-2 fertőzés transzmisszióját gátolni hivatott intézkedések. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy gyermekek mintáiból a KIPyV-et ebben a vizsgálati csoportban nem mutattuk ki, a WUPyV DNS-t is csak egy esetben.

5.6. Merkel sejt polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat

Az MCPyV ELISA vizsgálat alapján azokat a mintákat tekintettük szeropozitívnak, melyek OD értéke 0,146 felettinek bizonyult.

Az egyes mintákhoz tartozó optikai denzitás értékeket, azaz a szeroreaktivitást a **10. ábrán** korcsoportonként rendezve látjuk. Az egymást követő életkorcsoportok közt statisztikailag szignifikáns különbséget az OD értékben nem tapasztaltunk. A szeroprevalencia azonban az életkorral növekvő (**10. ábra**), amit χ^2 trend teszt erősített meg ($p=0,0004$). Ugyanezt tapasztalták más kutatók is [43, 159, 180-182].

10. ábra: MCPyV szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



Az ábrán található fekete pontok mindegyikéhez egy szérumminta átlagolt OD értéke tartozik. A szeroreaktivitás határértékét a piros szaggatott vonal reprezentálja. Statisztikai vizsgálathoz Mann-Whitney U tesztet és Fisher egzakt tesztet alkalmaztunk. A szignifikáns eltérést piros vonal, illetve csillag jelöli a következők szerint: $*=p \leq 0,05$. OD: optikai denzitás

A teljes populációban az ellenanyag-pozitivitási ráta 63,9% volt. A fertőzésen átesettek aránya a gyerekek (<18 évesek) körében is magasnak, 53,9%-nak bizonyult, sőt már a 6 évnél fiatalabbak 36,8%-a szeropozitív volt. Eredményeink a nemzetközi közlemények adataival összhangban állnak [42, 134, 159, 183-186]. Az átfertőzöttségi rátában szignifikáns növekedést a 10–13 és 14–20 éves korcsoportok között tapasztaltunk ($p=0,0396$). A felnőtt (>18 év) szeroprevalencia vizsgálati csoportunkban 69,3%, 40 év felett az életkor előrehaladtával kismértékben emelkedő. Néhány munkacsoporthoz hasonlóan a legmagasabb (72,1%) szeroprevalencia értéket a 60 évnél idősebbek körében figyelhettük meg [43, 159, 180-182, 184-186]. Ez összhangban áll azzal a megfigyeléssel, hogy bőrminták vizsgálatakor életkorral növekvő DNS prevalenciát, sőt DNS mennyiséget tapasztaltak, a legmagasabb értékeket a 60 évnél idősebbekben [187]. A vírus által okozott tumor előfordulási aránya ebben a korosztályban szintén jóval magasabb, 50 év alatt extrém ritkának mondható [188].

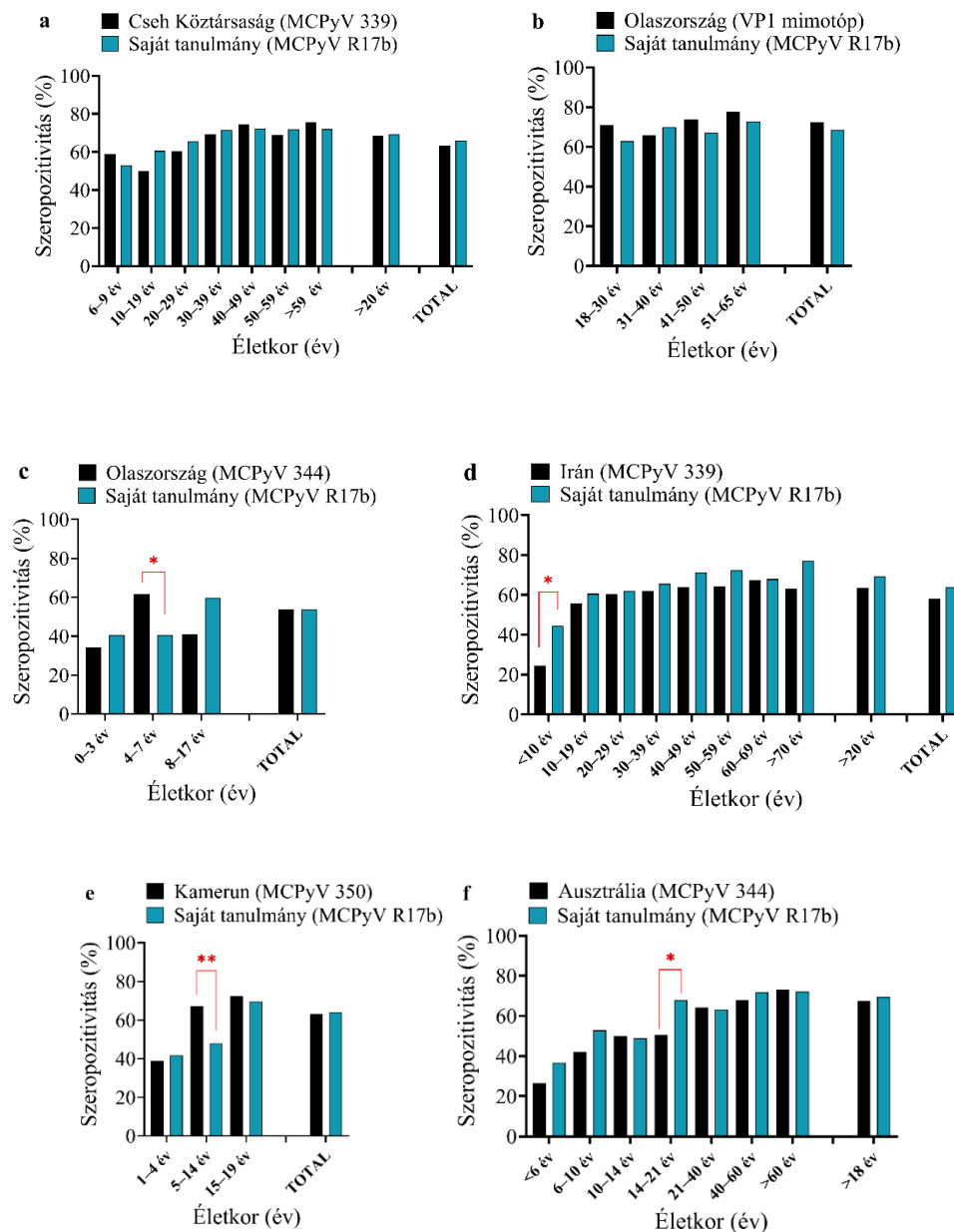
Bár a vizsgálati csoportunkban a nők és férfiak arányosan reprezentáltak (51,3% vs. 48,7%), a fertőzésen már átesettek körében nemi különbséget tapasztaltunk. A teljes csoportban szignifikánsan több nő, mint férfi volt ellenanyag-pozitív (195/283 vs. 158/269; $p=0,0133$). Ilyen különbséget a gyermekek és felnőttek körében nem tapasztaltunk. Hasonló eredményekről nem számoltak be, bár egy IgM pozitívítási vizsgálat során gyermekek és fiatal felnőttek esetében szintén a lányok, nők körében tapasztaltak szignifikánsan magasabb prevalenciát [183]. További vizsgálatok szükségesek az esetleges nemi különbségek tanulmányozásához.

Ugyan az általunk mért felnőtt szeropozitivitási arány (69,3%) illeszkedik a világ különböző pontjairól publikált adatok sorába, kérdés, hogy vajon miért mértek jelentős különbségeket (42–88%) az egyes kutatócsoportok.

A vizsgálati csoportok közti vagy a metodikai különbségek, az eltérő antigének magyarázatul szolgálhatnak, de lehetnek akár földrajzi különbségek is a szeroprevalenciában. Saját eredményeink értékeléséhez átfogó elemzést végeztünk. Adatainkat minden olyan közlemény adataival összevetettük, amelyekben korcsoportokra vonatkozó szeroprevalencia értékeket is publikáltak. Saját eredményeinket az összehasonlíthatóság kedvéért olyan korcsoportokba rendeztük, ami az adott publikációban szerepelt, és az azonos csoportokat statisztikai analízisnek vetettük alá. Sajnos a legtöbb publikációban a teljes vizsgálati csoport részletes adatai nem elérhetőek, az egyes korcsoportok esetében az életkorok minimum, maximum, medián vagy átlag értékei adottak csak. Ezért nem kizárt, hogy korban és nemben nem illesztett

csoportokat hasonlítottunk össze. Az összehasonlításokat publikációnként ábrázoltuk feltüntetve a földrajzi régiót, ahonnan a szeroprevalencia eredmények származnak, illetve a vírustörzset, amelynek VP1 fehérjét antigénként használták. A **11. ábra** azokat az összehasonlításokat mutatja be, amelyek esetében a felnőttekre vagy teljes populációra vonatkozó szeroprevalencia eredmények nem tértek el szignifikánsan az általuk mértéktől.

11. ábra: MCPyV szeroprevalencia eredményeinkhez hasonló nemzetközi adatok

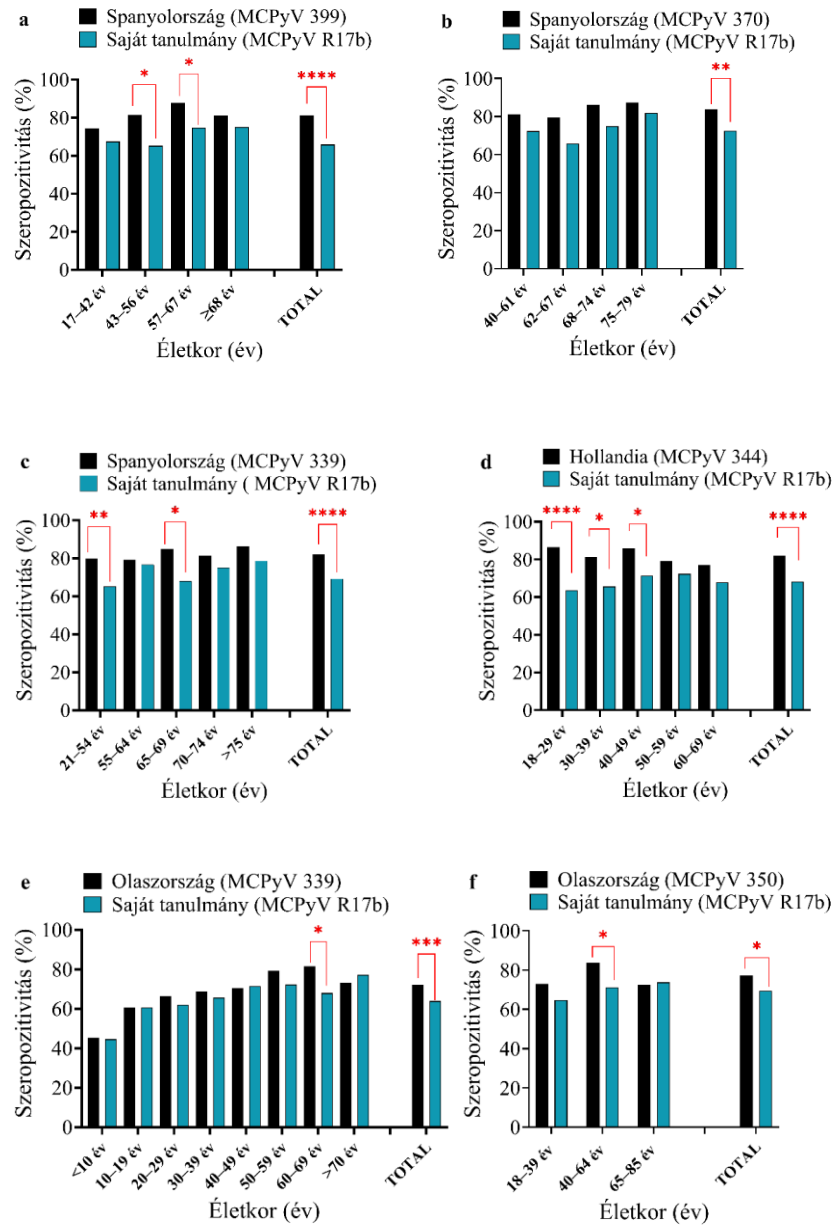


Az összehasonlítás az alábbi publikációk adataival történt: : **a)** [185], **b)** [189], **c)** [42], **d)** [190], **e)** [184], **f)** [159]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: *= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$.

Annak ellenére, hogy az alkalmazott módszerek, sőt, sokszor a vírusizolátumok is eltértek, a saját MCPyV szeroprevalencia adataink nagyon hasonlóak voltak a Csehországból (**11a. ábra**) [185], Olaszországból (**11b, 11c. ábra**) [42, 189], Iránból (**11d. ábra**) [190], Kamerunból (**11e. ábra**) [184] és Ausztráliából (**11f. ábra**) [159] származó közleményekben publikált eredményekhez. Minden esetben az életkorral nőtt a szeropozitivitás, szignifikáns különbségeket a fiatalabb korcsoportoknál figyelhetünk meg (**11c-11f. ábra**) [42, 159, 184, 190]. Ez arra utal, hogy a primer fertőzések földrajzi régiótól függően – beleértve a diverz társadalmi szokásokat, eltérő higiénés körülményeket – különböző életkorokban történhetnek meg. Antigénként használtak GST taggal ellátott VP1-et (**11c, 11d, 11f. ábra**) [42, 159, 190], VLP-t (**11a, 11e. ábra**) [184, 185], egy kutatócsoport pedig a VP1 peptidrészt alkalmazta. (**11b. ábra**) [189]. Szerológiai módszerként a legtöbb munkacsoport kolorimetriás ELISA-t választott (**11a, 11b, 11d, 11e. ábra**) [184, 185, 189, 190], de voltak, akik gyöngyalapú, multiplex, fluoreszcens immunszerológiai módszert alkalmaztak (**11c, 11f. ábra**) [42, 159].

A **12a-f. ábrák** [73, 110, 182, 191-193] azokat az összehasonlításokat mutatják be, amelyeket az általunk mértéktől szignifikánsan magasabb totál vagy felnőttkori szeroprevalencia adatokat közlő publikációk eredményeivel végeztünk. A spanyol (**12a-12c. ábra**) [110, 182, 191], holland (**12d. ábra**) [73] és olasz (**12e, 12f. ábra**) [192, 193] felnőtt vagy totál szeroprevalencia ugyan szignifikánsan magasabb volt az általunk mérthez képest, azonban a trendek, a szeroprevalencia életkor előrehaladtával növekvése nagyon hasonló volt minden esetben. A 18 év alattiak szeroprevalencia adatainak az összehasonlítását a legtöbb tanulmány esetében akadályozta, hogy vagy hiányos adatokat közöltek, vagy egyáltalán nem is vizsgáltak gyermekeket (**12a-12d, 12f. ábra**) [73, 110, 182, 191, 193]. Egy munkacsoport kivételével, akik GST taggal ellátott VP1 fehérjét használtak (**12b. ábra**) [110], a többiek VLP-t alkalmaztak antigénként. Immunszerológiai módszerként többségében kolorimetriás ELISA-t alkalmaztak (**12a, 12c, 12e, 12f. ábra**) [182, 191-193], két munkacsoport fluoreszcens, gyöngyalapú, multiplex metodikát választott (**12b, 12d. ábra**) [73, 110].

12. ábra: MCPyV szeroprevalencia eredményeinknél szignifikánsan magasabb átfertőzöttségi adatok

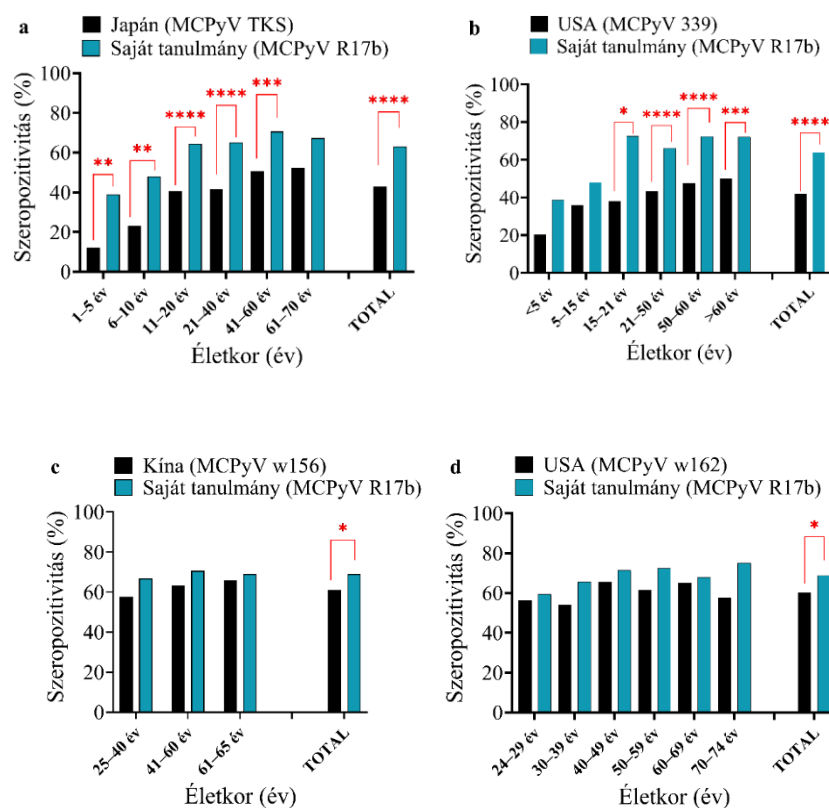


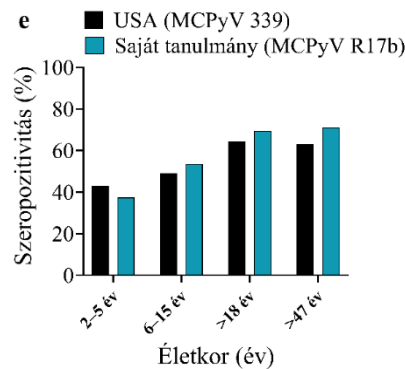
Az összehasonlítás az alábbi publikációk adataival történt: **a)** [191], **b)** [110], **c)** [182], **d)** [73], **e)** [192], **f)** [193]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: *= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ***= $p \leq 0,001$, ****= $p \leq 0,0001$.

Japánban (**13a. ábra**) [194], Kínában (**13c. ábra**) [181] és az Egyesült Államokban (**13b, 13d, 13e. ábra**) [43, 172, 195] az általunk detektálthoz képest alacsonyabb MCPyV átfertőzöttséget mértek. Két, gyermekek mintáit is vizsgáló felmérésben (**13a, 13b. ábra**) [43, 194] szinte minden életkorcsoportban szignifikánsan vagy jelentősen alacsonyabb MCPyV szeroprevalenciát tapasztaltak, mint mi. Kínából a csak felnőttek körében végzett

felmérés eredményeként minden korcsoportban alacsonyabb, és összességében szignifikánsan alacsonyabb felnőttkori szeropozitivitási arányt publikáltak (13c. ábra) [181]. Az USA-beli adatok elemzése alapján (13b, 13d. ábra) [43, 172] pedig úgy tűnik, hogy az összességében alacsonyabb MCPyV szeroprevalencia a felnőttekre vonatkozik, mert a gyermekek és fiatal felnőttek esetében csak kismértékben térnek el adataink. Antigénként eukarióta expressziós rendszerben előállított VLP-t (13a, 13e. ábra) [194, 195] és baktériumokban expresszált GST-VP1-et használtak (13b-13d. ábra) [43, 172, 181], a mérés mágneses gyöngy alapú, luminometriás szerológiai módszerrel (13a, 13c, 13d. ábra) [172, 181, 194] vagy kolorimetriás ELISA-val (13b, 13e. ábra) történt [43, 195].

13. ábra: MCPyV szeroprevalencia eredményeinknél alacsonyabb átfertőzöttségi adatok





Az összehasonlítás az alábbi publikációk adataival történt: **a)** [194], **b)** [43], **c)** [181], **d)** [172], **e)** [195]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: $*=p \leq 0,05$, $**=p \leq 0,01$, $***=p \leq 0,001$, $****=p \leq 0,0001$.

Összességében elmondható, hogy eltérő módszerekkel végzett vizsgálatok esetén is megfigyelhetünk a miénkhez nagyon hasonló eredményeket, míg szinte azonos metodikát alkalmazva is láthatók szignifikáns eltérések. A szeroprevalencia eredményeket esetlegesen befolyásolhatja, hogy milyen antigén előállítási, tisztítási módszert alkalmazunk. Azonban azt tapasztaltuk, hogy a saját, His taggal ellátott VP1 fehérjével végzett ELISA módszerünk eredménye hasonló volt a VLP-t (**11a.** [185] és **11e. ábra** [184]), vagy éppen VP1 peptidrészletet (**11b. ábra** [189]) antigénként alkalmazó munkacsoportok adataihoz. Az eredményeket befolyásolhatja, hogy antigénként sok esetben eltérő MCPyV izolátumok VP1 fehérjéit alkalmazták. Filogenetikai vizsgálatok alapján korábban már felvetették a genotípusok földrajzi elkülönülését [111, 196]. Li és munkatársai szeroprevalencia vizsgálataik során a Japánból származó TKS izolátum VP1 fehérjéjével dolgoztak, ami eltérő szekvencia kládba tartozott, mint azok, amiket mások és mi is választottunk méréseinkhez [194]. Ez arra utal, hogy MCPyV esetében létezhetnek földrajzilag eltérő genotípusok, amik a szeroprevalenciában mutatkozó különbségek hátterében állhatnak. Ennek tisztázása érdekében eltérő földrajzi régióból származó szekvencia adatok gyűjtése és elemzése lenne célszerű, valamint a szeroprevalencia vizsgálatokat érdemes lenne az adott régióra specifikus genotípusok felhasználásával elvégezni.

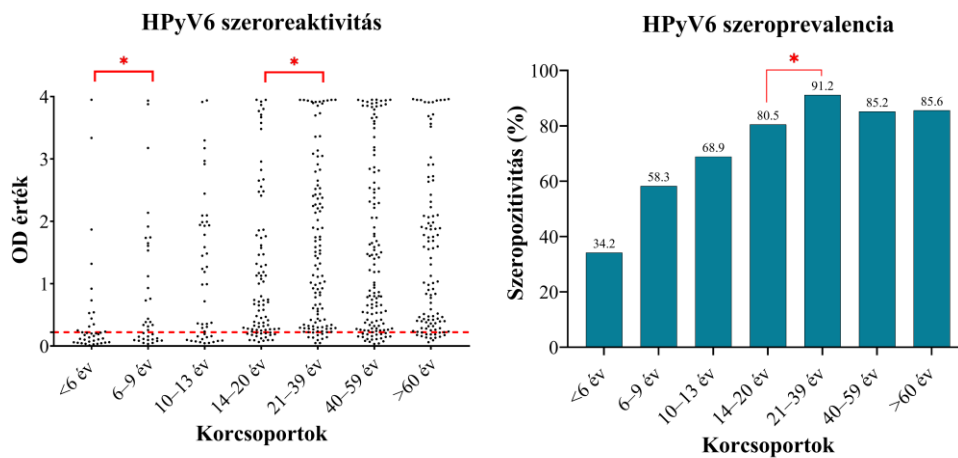
Szeroprevalencia vizsgálataink eredményei alapján az MCPyV hazánkban is ubiquiter vírus. A primer fertőzésen a populáció nagy része gyermekkorban átesik, a szeropozitivitás életkorral növekvő.

5.7. Humán polyomavírus 6 szeroprevalencia vizsgálat

A HPyV6 ELISA cut-off értékének meghatározása után minden mintát szeropozitívnak tekintettünk, melyek OD értéke $>0,222$ volt.

Az egyes korcsoportokba tartozó OD értékeket és a HPyV6 szeroprevalenciát a **14. ábra** mutatja be. A szeroreaktivitás statisztikailag szignifikáns növekedését a 6–9 éves ($p=0,0359$), illetve a 21–39 éves ($p=0,0192$) korcsoportokban figyeltük meg.

14. ábra: HPyV6 szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



A szeroreaktivitás ábrán minden fekete pont egy szérumminta átlagolt OD értékét reprezentálja. Piros, szaggatott vonal jelzi a szeropozitivitási határértéket. A statisztikai analízist Mann-Whitney U teszttel végeztük. A szeroprevalencia tanulmányozásánál a statisztikai vizsgálatot Fisher egzakt teszttel végeztük. Piros vonal és csillag jelöli a szignifikáns eltéréseket az alábbiak szerint: $*=p \leq 0,05$. OD: optikai denzitás

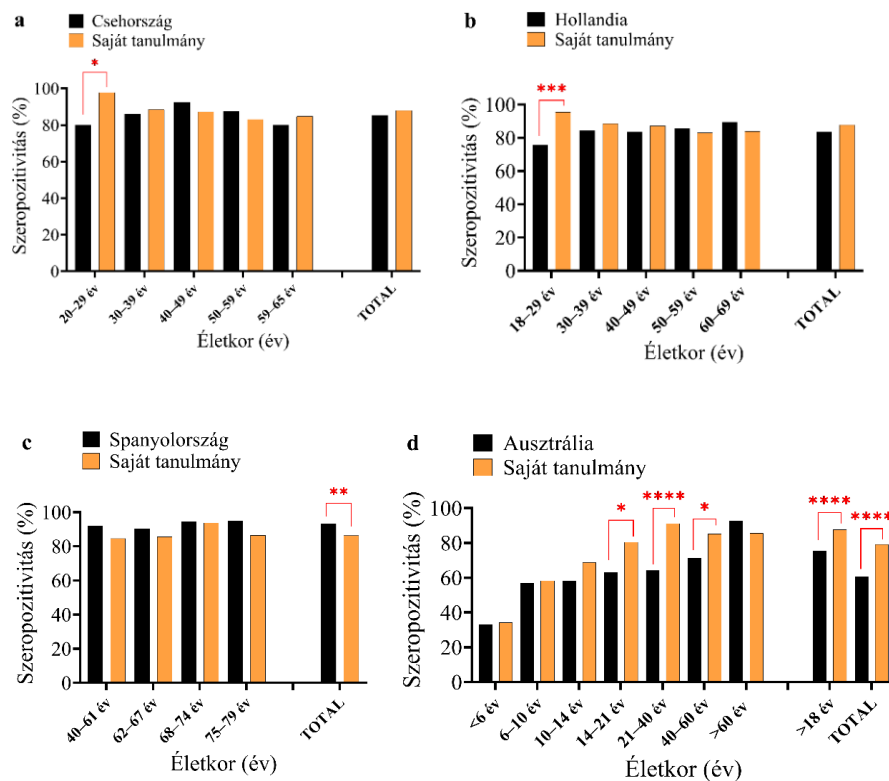
A HPyV6 szeropozitivitás a teljes vizsgálati populációban 79,2% volt. Eredményeink alapján a primer fertőzések jelentős része gyermekkorban zajlik, a 18 évnél fiatalabbak 63,2%-a már átesett a fertőzésen. Az ellenanyag-pozitivitási ráta egészen 40 éves korig az életkorral növekedett. Az életkor és a szeroprevalencia közti szignifikáns összefüggést a χ^2 trend teszt is igazolta ($p < 0,0001$). A felnőttek (>18 évesek) 87,7%-a rendelkezett vírusellenes ellenanyaggal. A legmagasabb, 91,2%-os prevalenciát a 21–39 évesek közt mértük, az ellenanyag-pozitivitási arány szignifikáns növekedését is – hasonlóan az OD értékekhez – ebben a korcsoportban figyeltük meg. Az idősebbekben kissé alacsonyabb, de változatlan szeropozitivitási rátát tapasztaltunk. Eredményeink hasonlóak a mások által publikáltakhoz [42, 73, 74, 134, 159]. A szeroprevalencia eredmények összhangban

állnak egy DNS prevalenciát vizsgáló tanulmány eredményeivel: egészséges bőrmintákban a HPyV6 DNS mennyisége és a prevalencia is életkorral növekvőnek bizonyult [136].

A HPyV6 fertőzés vizsgálata kapcsán nemi különbséget figyeltünk meg, amelyről mások nem számoltak be. A szeropozitív gyermekek közt szignifikánsan több volt a lány (68/96 vs. 54/97; $p=0,0366$), és a teljes vizsgált populációban is több nő, mint férfi bizonyult szeropozitívnak (234/283 vs. 203/269; $p=0,0461$). A nemi különbség okát nem tudjuk, további vizsgálatok, illetve a terjedési mód biztos ismerete lenne szükséges.

Bár mind a teljes (79,2%), mind a felnőttekre vonatkozó (87,7%) HPyV6 szeroprevalencia eredményünk a mások által publikált 52–92%-os tartományba illeszthető, szembetűnő, hogy a mért értékek közt akár 40% is lehet az eltérés. Az MCPyV fejezetben leírtak szerint átfogó elemzést végeztünk a saját és mások által közölt adatok összevetésével (15. ábra).

15. ábra: HPyV6 szeroprevalencia eredmények összehasonlítása nemzetközi adatokkal



Az összehasonlításhoz használt publikációk a következők voltak: **a)** [170], **b)** [73], **c)** [110], **d)** [159]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: * = $p \leq 0,05$, ** = $p \leq 0,01$, *** = $p \leq 0,001$, **** = $p \leq 0,0001$.

Csehországból (**15a. ábra**) [170] és Hollandiából (**15b. ábra**) [73] is az általunk mérthez nagyon hasonló felnőtt szeroprevalencia eredményeket publikáltak, mindössze a fiatal felnőttek körében mutatkozott eltérés. A cseh kutatók a mérést a miénkhez hasonló ELISA módszerrel végezték, antigénként GST taggal ellátott VP1 fehérjét és VLP-t is alkalmaztak. A kutatócsoport igazolta, hogy az eltérő módszerrel előállított antigének használata nem okoz jelentős különbséget a mérési eredményekben [170]. Spanyolországból szignifikánsan magasabb (**15c. ábra**) [110], Ausztráliából viszont szignifikánsan alacsonyabb (**15d. ábra**) [159] felnőtt HPyV6 átfertőzöttségi adatokat publikáltak. További különbség, hogy az ausztrál populációban az idősekben is folyamatosan növekvő volt a szeropozitivitás. A holland, a spanyol és az ausztrál csoport is GST taggal ellátott VP1 fehérjét használt multiplex, gyöngyalapú, fluoreszcens immunszerológiai reakcióban. A metodikai különbségek ellenére az általunk mérthez hasonló és eltérő szeroprevalencia eredményeket is közöltek. Így felmerül, hogy tényleges földrajzi különbség, akár földrajzilag eltérő vírusvariánsok a magyarázat az eltérő szeroprevalencia adatokra, esetleg a vizsgálati csoportok különböztek jelentősebben. A vírus terjedési módja nem ismert, így a terjedési módokat befolyásoló tényezők sem, amelyek lehetnek esetlegesen kulturálisan, földrajzilag különbözőek.

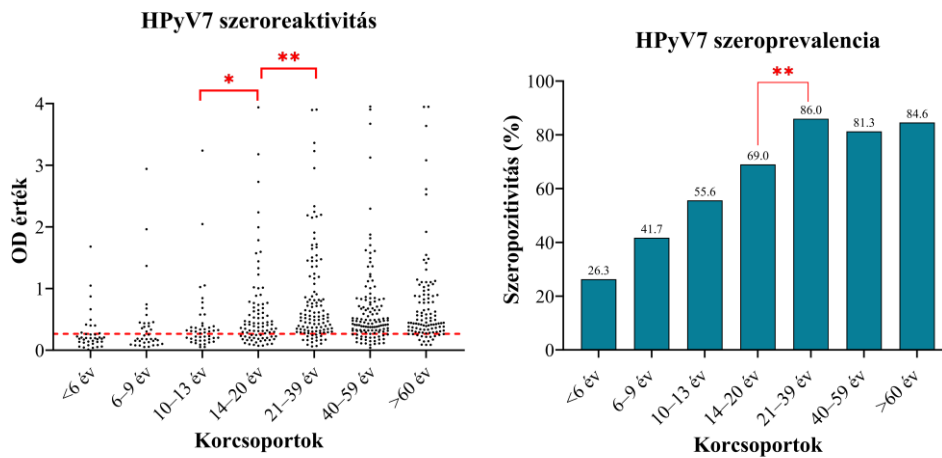
Összességében azonban megállapíthatjuk, hogy a HPyV6 fertőzés hazánkban is gyakori, így az általa okozott kórképekre is számíthatunk.

5.8. Humán polyomavírus 7 szeroprevalencia vizsgálat

HPyV7 ELISA vizsgálatokban a számított cut-off érték alapján szeropozitívnak tekintettünk minden $>0,265$ OD értékkel rendelkező mintát.

A **16. ábra** a HPyV7 ELISA mérési eredményeket, azaz az OD értékeket és a számított szeropozitivitási arányokat korcsoportok szerint mutatja. Az OD értékek szignifikáns növekedését a 14–20, valamint a 21–39 évesek körében figyeltük meg ($p=0,021$ és $p=0,003$).

16. ábra: HPyV7 szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



Minden fekete pont egy szérumminta átlagolt OD értékét reprezentálja. Piros, szaggatott vonal jelzi a szeropozitivitási határértéket. A statisztikai analízist Mann-Whitney U teszttel végeztük. A szeroprevalencia tanulmányozásánál a statisztikai vizsgálatot Fisher egzakt teszttel végeztük. Piros vonal és csillag jelöli a szignifikáns eltéréseket az alábbiak szerint: **= $p \leq 0,01$. OD: optikai denzitás

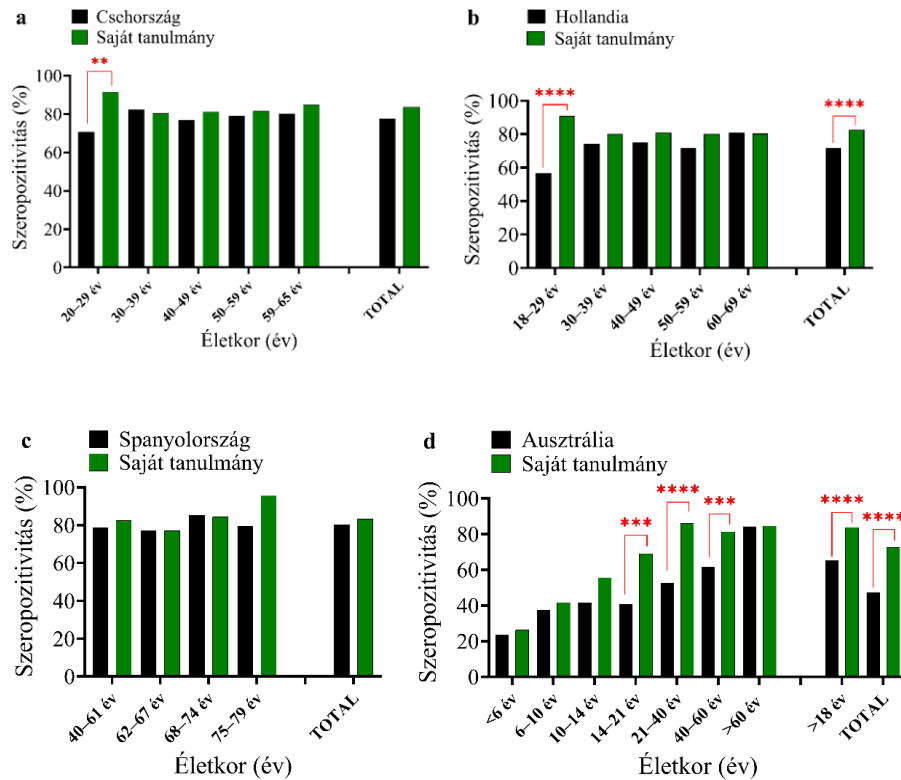
Vizsgálataink alapján a HPyV7 gyerekek (<18 évesek) körében mért szeroprevalencia 51,3%, vagyis a primer fertőzések jelentős része gyermekkorban történik. Ezt néhány korábbi közlemény is megerősíti [42, 74, 134, 159]. A felnőttek (>18 évesek) körében az átfertőzöttség, 83,8%-nak bizonyult, így a teljes, vizsgált populáció 72,5%-a esett már át a HPyV7 fertőzésen. A szeroprevalencia az életkor előrehaladtával 40 éves korig növekedett, amit a χ^2 trend teszt is alátámaszt ($p < 0,0001$). A szeropozitív arányának szignifikáns növekedését a 14–20 és 21–39 éves korcsoportok között tapasztaltuk ($p = 0,0052$), a legmagasabb átfertőzöttségi arányt a 21–39 évesek körében mértünk. A szeroprevalencia 40 év felett kissé alacsonyabbnak bizonyult, viszont idősebbekben kismértékű emelkedést tapasztaltunk.

A HPyV6-hoz hasonlóan, a HPyV7 fertőzöttek közt is szignifikánsan több volt a nő, mint a férfi a teljes populációban ($p = 0,017$) és a gyermekek ($p = 0,0062$) közt is.

A hazai HPyV7 átfertőzöttségi ráta összhangban áll a korábban publikáltakkal [45, 73, 110, 148, 159, 170]. A magas szeroprevalencia értékek alapján kijelenthető, hogy a HPyV7 gyakori vírusfertőzés Magyarországon is. Kérdés azonban, hogy mi állhat a nagy, akár 50%-ot meghaladó szeroprevalencia különbségek (33–84%) hátterében. Az elérhető, néhány publikáció adatait ezért ebben az esetben is részletesebb vizsgálatnak vetettük alá

(17. ábra). Ugyanannak a négy, cseh, spanyol, holland és ausztrál tanulmánynak az adatait vizsgáltuk, amit a HPyV6 esetében is.

17. ábra: HPyV7 szeroprevalencia eredmények összehasonlítása nemzetközi adatokkal



Az összehasonlításhoz használt publikációk a következők voltak: **a)** [170], **b)** [73], **c)** [110], **d)** [159]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: ******= $p \leq 0,01$, *******= $p \leq 0,001$, ********= $p \leq 0,0001$.

A spanyol (17c. ábra) [110] és cseh (17a. ábra) [170] szeroprevalencia adatok az általunk mértekhez hasonlóak, viszont a csehországi, VLP-vel végzett vizsgálati eredményekhez képest szignifikáns eltéréseket is tapasztaltunk (17a. ábra) [170]. A holland felnőtt szeropozitivitási ráta a 60 évnél fiatalabbakban alacsonyabbnak bizonyult, a fiatal felnőttek körében szignifikáns a különbség, valamint a felnőttekre összességében (>18 évesek) számított érték is szignifikánsan alacsonyabb a mi vizsgálati csoportunkhoz képest (17b. ábra) [73]. Érdekes, hogy a 60 évnél idősebbek körében viszont nincs szeroprevalencia különbség a két populáció közt. Ausztráliából szignifikánsan alacsonyabb HPyV7 átfertőzöttségi rátát közöltek (17d. ábra) [159]. A kisgyermekek (<14 évesek) közt azonos a fertőzésen átesettek aránya, a szeroprevalencia növekedése

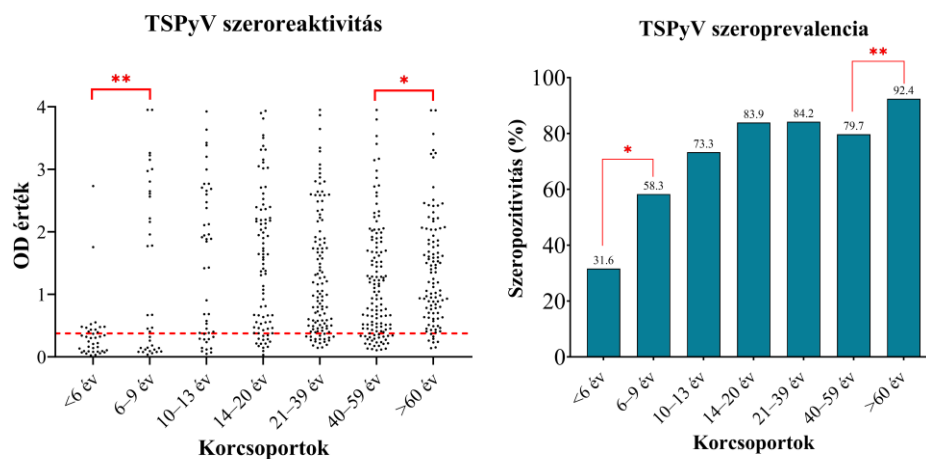
hasonló trendet követ a két populációban. Kivétel, hogy ellentétben az általunk tapasztaltakkal, Ausztráliában az idősek közt is nőtt a szeropozitivitási arány (17d. ábra) [159]. Mivel a módszertani különbségek ellenére nagyon hasonló eredmények is születtek, így a HPyV6-hoz hasonlóan további vizsgálatok szükségesek ahhoz, hogy a szeropozitivitási arányok különbségeinek okait feltárhassuk.

5.9. Trichodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus szeroprevalencia vizsgálat

A TSPyV ELISA vizsgálatban a megállapított cut-off érték alapján szeropozitívnak tekintettünk minden mintát, melynek OD értéke $>0,375$ volt.

A szeroreaktivitást és a szeroprevalenciát az egyes korcsoportokban a 18. ábra szemlélteti. Az OD értékek szignifikáns növekedését a két legfiatalabb csoport ($p=0,009$), illetve a két legidősebb korcsoport között tapasztaltuk ($p=0,029$). A szeropozitivitási arány szintén ezen korcsoportok közt nőtt szignifikánsan ($p=0,0346$ és $p=0,0084$).

18. ábra: TSPyV szeroreaktivitás és szeroprevalencia korcsoportonként



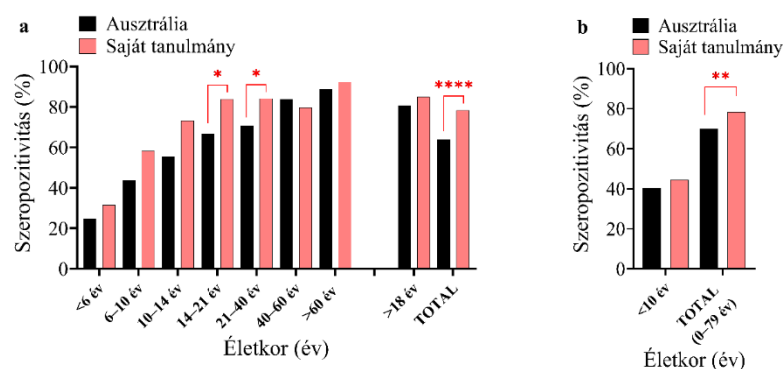
A szeroreaktivitás ábrán minden fekete pont egy szérumminta átlagolt OD értékét reprezentálja. Piros, szaggatott vonal jelzi a szeropozitivitási határértéket. A statisztikai analízist Mann-Whitney U teszttel végeztük. A szeroprevalencia tanulmányozásához a statisztikai vizsgálatot Fisher egzakt teszttel végeztük. A szignifikáns eltérést piros vonal és csillag jelzi az alábbiak szerint: $*=p\leq 0,05$, $**=p\leq 0,01$. OD: optikai denzitás

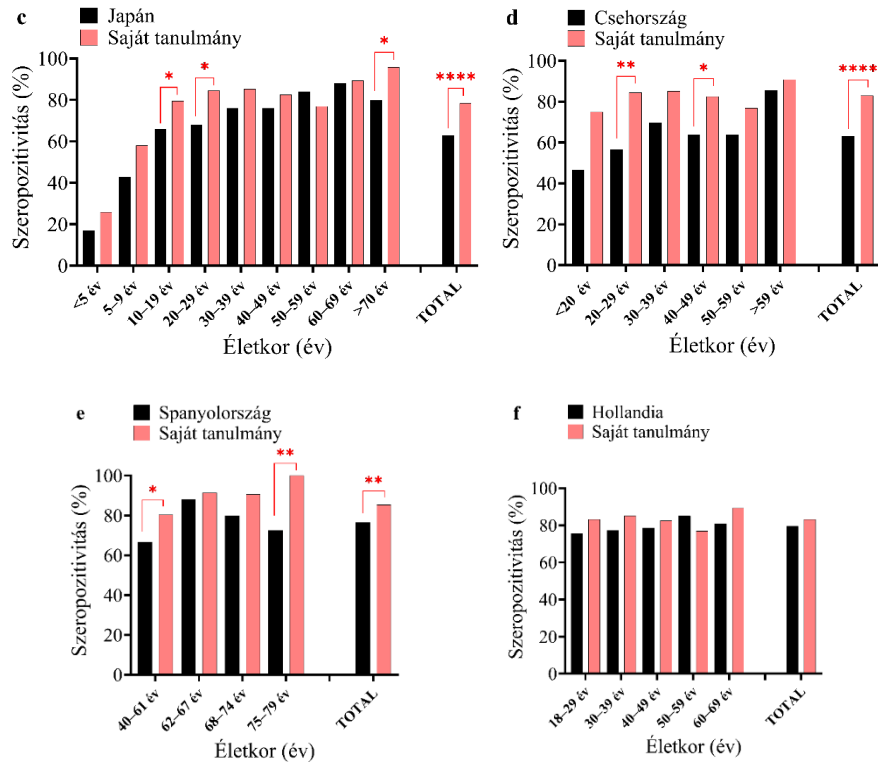
Méréseink alapján 78,4% volt a TSPyV fertőzésen már átesettek aránya a teljes vizsgált kohorszban, míg a felnőttek 85%-a rendelkezett vírusellenes IgG ellenanyagokkal. A TSPyV-vel kapcsolatos publikációk alapján a primer fertőzések

jelentős része gyermekkorra tehető [42, 74, 134, 158, 159, 163-165], ezt támasztják alá saját eredményeink is, mivel a gyerekek (<18 évesek) 66,3%-a bizonyult ellenanyag-pozitívnak. A szeropozitívak aránya az életkorral folyamatosan növekvő, amit a χ^2 trend teszt vizsgálat is megerősített ($p < 0,0001$). A tinédzserek és fiatal felnőttek körében 80% feletti volt a fertőzésen átesettek száma, azonban a legmagasabb, 92,4%-os szeropozitivitást a 60 évnél idősebbek körében detektáltuk. Az idősek emelkedett szeropozitivitását más kutatócsoportok is megfigyelték [159, 164, 170]. Ennek oka lehet, hogy idősebb korban az immunrendszer gyengülésével nő a fertőzésekre a fogékonyság, illetve a látens fertőzések reaktivációjának esélye is magasabb. Ez utóbbi esetén a reaktiváció eredményezhet szeroreaktivitás növekedést. Nemi különbséget nem tártunk fel.

Az általunk mért 85%-os felnőttkori szeroprevalencia kissé magasabb a mások által publikált 63–80%-os értékhez képest [45, 73, 158, 159, 163-165, 170], azonban hasonló az Amerikai Egyesült Államokban mért 80,9%-os felnőtt szeroprevalenciához [148]. Hat publikáció adataival elvégeztük az előzőekben már ismertetett, részletesebb elemzést, amelyek eredményeit a **19. ábra** szemlélteti.

19. ábra: *TSPyV* szeroprevalencia eredmények összehasonlítása nemzetközi adatokkal





Az összehasonlításhoz használt publikációk a következők voltak: **a)** [159], **b)** [165], **c)** [164], **d)** [170], **e)** [110], **f)** [73]. A szignifikáns eltéréseket piros vonal és csillag jelzi a következők szerint: *= $p \leq 0,05$, **= $p \leq 0,01$, ****= $p \leq 0,0001$.

Annak ellenére, hogy több esetben is szignifikánsan alacsonyabb szeropozitivitási arányról számoltak be az általunk tapasztaltnál képest, számos hasonlóságot tártunk fel. Az Ausztráliából származó tanulmányban a szeroprevalencia életkor előrehaladtával növekvő trendje rendkívül hasonló volt ahhoz, amit mi is tapasztaltunk (**19a. ábra**) [159]. Emellett a 10 évnél fiatalabbak, a 40 évnél idősebbek, és a 18 év feletti felnőttek szeropozitivitási aránya nem tért el szignifikánsan az általunk ugyanezen életkorcsoportokban mértektől. Szintén egy ausztrál publikáció teljes szeropozitivitási adataihoz képest a saját eredményeink szignifikánsan magasabbnak bizonyultak (**19b. ábra**) [165]. Mindkét közleményben prokarióta rendszerben előállított, GST taggal ellátott VP1 fehérjét használták antigénként a fluoreszcens, multiplex szerológiai módszerükhöz. Japánból összességében szintén alacsonyabb felnőttkori szeroprevalenciáról számoltak be, viszont a primer fertőzésen átesettek aránya hasonlóan emelkedett az életkorral, mint amit mi tapasztaltunk. A legidősebb korosztály eredményei azonban eltérnek, mert Japánban, ellentétben velünk, csökkenő szeropozitivitási arányt figyeltek meg 70 év felett. (**19c. ábra**) [164]. Méréseikhez kolorimetriás ELISA módszert választottak, melyhez VLP antigént használtak. Az idősekre jellemző, emelkedett

szeroprevalenciát hozzánk hasonlóan az ausztrál és cseh adatok esetében figyelhetjük meg (**19a, 19d. ábra**) [159, 170]. Ezzel ellentétben Japánból és Spanyolországból az idősek alacsonyabb átfertőzöttségéről számoltak be (**19c, 19e. ábra**) [110, 164]. Nem tapasztaltunk szignifikáns eltéréseket a Hollandiából származó, felnőtt szeropozitivitási adatokhoz képest, amelyet prokariótában termelt, GST-VP1 antigénnel, multiplex, gyöngy alapú szerológiai módszerrel mértek (**19f. ábra**) [73]. Így a TSPyV esetén is megállapíthatjuk, hogy a különböző szeroprevalencia adatok háttérében kevésbé a módszertani különbségek állhatnak. Amellett, hogy a vizsgálati csoportok jelentősen különbözhetnek, akár földrajzilag eltérő vírusvariánsok is magyarázhatják a különbségeket. A vírus hazánkban is ubiquiter, így amennyiben a betegséget primer fertőzésként okozza, inkább immunszupprimált gyermekek és olyan immunszupprimált felnőttek körében számíthatunk a TS megjelenésére, akik még nem estek át a TSPyV fertőzésen korábban.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A doktori kutatómunka során hat, a *Polyomaviridae* családba tartozó polyomavírus prevalenciáját tanulmányoztuk. A KIPyV, WUPyV, MCPyV, HPyV6, HPyV7 és TSPyV szeroprevalencia vizsgálatainkhoz mind a hat vírus kapszid antigénjét, VP1 proteinjét sikeresen állítottuk elő bakteriális fehérje expressziós rendszerben. Az antigénekkal a VP1 elleni IgG ellenanyagok detektálására alkalmas, indirekt, kolorimetriás ELISA módszert fejlesztettünk és optimalizáltunk mind a hat vírusra. A vizsgálatokat nagyszámú, immunkompetenes gyermekektől és felnőttektől származó szérummintával végeztük, a hazai szeroprevalenciát különböző korcsoportokban mértük és elemeztük. Megállapítottuk, hogy valamennyi vizsgált polyomavírus Magyarországon ubiquiter, amit a felnőtt szeropozitivitási adatok támasztanak alá. Eredményeink alapján a felnőttek 93,7%-a KIPyV, 89,2%-a WUPyV, 69,3%-a MCPyV, 87,7%-a HPyV6, 83,8%-a HPyV7 és 85%-a TSPyV fertőzésre szeropozitív. Az ellenanyag-pozitivitási ráta életkorral növekvő volt mind a hat vírus esetében, a primer fertőzések zömmel gyermekkorban, KIPyV és WUPyV esetében kisgyermekkorban (<6 év) zajlottak. Fiatal felnőttkortól már csak kismértékű változást tapasztaltunk. A nők körében magasabb MCPyV, HPyV6 és HPyV7 szeropozitivitási arányt figyeltünk meg. TSPyV esetében az idős korosztályban, 60 év felett szignifikáns növekedést tapasztaltunk az átfertőzöttségi arányban. Adatainkat a nemzetközi publikációk adataival összevetve megállapítottuk, hogy a hazai szeropozitivitás hasonló vagy egyező a mások által mértekkel. A publikált átfertőzöttségi értékekben mutatkozó viszonylag nagy különbségek hátterében vélhetően nem a mérési módszerek vagy az antigén előállítási különbségek állnak.

A SARS-CoV-2 világjárvány idején légúti mintákban vizsgáltuk a KIPyV és a WUPyV DNS prevalenciáját, az esetleges koinfekciót. A polyomavírusok és a SARS-CoV-2 fertőzés közt összefüggést nem tártunk fel. Mindkét vírus prevalenciája a várható képest jóval alacsonyabbnak bizonyult, gyermekek mintáiban KIPyV DNS-t nem, WUPyV DNS-t pedig mindössze egy esetben detektáltunk. Feltételezésünk szerint mindkét vírus terjedését a korlátozó intézkedések gátolhatták.

7. SUMMARY

In the present study, we examined the prevalence of six polyomaviruses from the family *Polyomaviridae*. For our seroprevalence studies of KIPyV, WUPyV, MCPyV, HPyV6, HPyV7, and TSPyV, the capsid antigen (VP1 protein) of all six viruses, was successfully produced in bacterial protein expression system. We developed and optimized an indirect, colorimetric ELISA method for the detection of IgG antibodies against VP1 using the antigens for all six viruses. The assays were performed using large numbers of serum samples from immunocompetent children and adults, and Hungarian seroprevalence was measured and analysed in different age groups. We found that all polyomaviruses studied are ubiquitous in Hungary, which is supported by the adult seroprevalence data. According to our results, 93.7% of adults are seropositive for KIPyV, 89.2% for WUPyV, 69.3% for MCPyV, 87.7% for HPyV6, 83.8% for HPyV7 and 85% for TSPyV. Antibody positivity rates increased with age for all six viruses, with primary infections occurring mostly in childhood, and at very young ages (<6 years) for KIPyV and WUPyV. There was little change in seropositivity rates after young adulthood. Higher seroprevalence rates of MCPyV, HPyV6 and HPyV7 were observed among females. For TSPyV, we observed a significant increase in seropositivity rates in the older age group, above 60 years. By comparing our data with those of international publications, we found that our seroprevalence data is similar to or in agreement with those measured by others. The relatively large differences in the published seropositivity rates are probably not due to differences in serological methods or in the production of antigens.

During the SARS-CoV-2 pandemic, the prevalence of KIPyV and WUPyV DNA in respiratory samples was investigated for possible co-infection. No association between polyomaviruses and SARS-CoV-2 infection was detected. The prevalence of both viruses was much lower than expected, with no KIPyV DNA detected in samples from children and WUPyV DNA detected in only one sample. We hypothesized that the spread of both viruses may have been inhibited by lockdown measures.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Henriksen, S., et al., *The Presumed Polyomavirus Viroporin VP4 of Simian Virus 40 or Human BK Polyomavirus Is Not Required for Viral Progeny Release*. J Virol, **2016**. 90(22): p. 10398-10413.
2. Shen, P.S., et al., *The structure of avian polyomavirus reveals variably sized capsids, non-conserved inter-capsomere interactions, and a possible location of the minor capsid protein VP4*. Virology, **2011**. 411(1): p. 142-52.
3. Dalianis, T. and H.H. Hirsch, *Human polyomaviruses in disease and cancer*. Virology, **2013**. 437(2): p. 63-72.
4. DeCaprio, J.A. and R.L. Garcea, *A cornucopia of human polyomaviruses*. Nat Rev Microbiol, **2013**. 11(4): p. 264-76.
5. Calvignac-Spencer, S., et al., *A taxonomy update for the family Polyomaviridae*. Arch Virol, **2016**. 161(6): p. 1739-50.
6. Gross, L., *A filterable agent, recovered from Ak leukemic extracts, causing salivary gland carcinomas in C3H mice*. Proc Soc Exp Biol Med, **1953**. 83(2): p. 414-21.
7. Morgan, G.J., *Ludwik Gross, Sarah Stewart, and the 1950s discoveries of Gross murine leukemia virus and polyoma virus*. Stud Hist Philos Biol Biomed Sci, **2014**. 48 Pt B: p. 200-9.
8. Sweet, B.H. and M.R. Hilleman, *The vacuolating virus, S.V. 40*. Proc Soc Exp Biol Med, **1960**. 105: p. 420-7.
9. Shah, K.V., *SV40 and human cancer: a review of recent data*. Int J Cancer, **2007**. 120(2): p. 215-23.
10. *in Immunization Safety Review: SV40 Contamination of Polio Vaccine and Cancer*, K. Stratton, D.A. Almario, and M.C. McCormick, Editors. **2002**: Washington (DC).
11. Buck, C.B., et al., *The Ancient Evolutionary History of Polyomaviruses*. PLoS Pathog, **2016**. 12(4): p. e1005574.
12. Gardner, S.D., et al., *New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation*. Lancet, **1971**. 1(7712): p. 1253-7.
13. Padgett, B.L., et al., *Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy*. Lancet, **1971**. 1(7712): p. 1257-60.
14. Bohl, D.L. and D.C. Brennan, *BK virus nephropathy and kidney transplantation*. Clin J Am Soc Nephrol, **2007**. 2 Suppl 1: p. S36-46.
15. Weinberg, G.A. and A.N. Mian, *BK virus nephropathy and other polyoma virus infections*. Pediatr Infect Dis J, **2010**. 29(3): p. 257-60.
16. Giraud, G., et al., *BK-viruria and haemorrhagic cystitis are more frequent in allogeneic haematopoietic stem cell transplant patients receiving full conditioning and unrelated-HLA-mismatched grafts*. Bone Marrow Transplantation, **2008**. 41(8): p. 737-742.
17. Randhawa, P., et al., *A comparative study of BK and JC virus infections in organ transplant recipients*. J Med Virol, **2005**. 77(2): p. 238-43.
18. Hirsch, H.H., et al., *The human JC polyomavirus (JCPyV): virological background and clinical implications*. APMIS, **2013**. 121(8): p. 685-727.
19. Delbue, S., et al., *Human Polyomaviruses in the Cerebrospinal Fluid of Neurological Patients*. Microorganisms, **2019**. 8(1).

20. Tan, C.S. and I.J. Koralnik, *Progressive multifocal leukoencephalopathy and other disorders caused by JC virus: clinical features and pathogenesis*. Lancet Neurol, **2010**. 9(4): p. 425-37.
21. Small, J.A., et al., *Early regions of JC virus and BK virus induce distinct and tissue-specific tumors in transgenic mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, **1986**. 83(21): p. 8288-92.
22. Del Valle, L. and S. Pina-Oviedo, *Human Polyomavirus JCPyV and Its Role in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy and Oncogenesis*. Front Oncol, **2019**. 9: p. 711.
23. Starrett, G.J., et al., *Evidence for virus-mediated oncogenesis in bladder cancers arising in solid organ transplant recipients*. Elife, **2023**. 12.
24. Allander, T., et al., *Identification of a third human polyomavirus*. J Virol, **2007**. 81(8): p. 4130-6.
25. Gaynor, A.M., et al., *Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections*. PLoS Pathog, **2007**. 3(5): p. e64.
26. Feng, H., et al., *Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma*. Science, **2008**. 319(5866): p. 1096-100.
27. Schowalter, R.M., et al., *Merkel cell polyomavirus and two previously unknown polyomaviruses are chronically shed from human skin*. Cell Host Microbe, **2010**. 7(6): p. 509-15.
28. van der Meijden, E., et al., *Discovery of a new human polyomavirus associated with trichodysplasia spinulosa in an immunocompromized patient*. PLoS Pathog, **2010**. 6(7): p. e1001024.
29. Scuda, N., et al., *A novel human polyomavirus closely related to the african green monkey-derived lymphotropic polyomavirus*. J Virol, **2011**. 85(9): p. 4586-90.
30. Siebrasse, E.A., et al., *Identification of MW polyomavirus, a novel polyomavirus in human stool*. J Virol, **2012**. 86(19): p. 10321-6.
31. Korup, S., et al., *Identification of a novel human polyomavirus in organs of the gastrointestinal tract*. PLoS One, **2013**. 8(3): p. e58021.
32. Lim, E.S., et al., *Discovery of STL polyomavirus, a polyomavirus of ancestral recombinant origin that encodes a unique T antigen by alternative splicing*. Virology, **2013**.
33. Gedvilaite, A., et al., *Novel polyomaviruses in shrews (Soricidae) with close similarity to human polyomavirus 12*. Journal of General Virology, **2017**.
34. Mishra, N., et al., *Identification of a novel polyomavirus in a pancreatic transplant recipient with retinal blindness and vasculitic myopathy*. J Infect Dis, **2014**. 210(10): p. 1595-9.
35. Gheit, T., et al., *Isolation and characterization of a novel putative human polyomavirus*. Virology, **2017**. 506: p. 45-54.
36. Ondov, B.D., et al., *Mash Screen: high-throughput sequence containment estimation for genome discovery*. Genome Biol, **2019**. 20(1): p. 232.
37. Torres, C., et al., *Identification of a new polyomavirus in distinct human populations and tissues*. J Med Virol, **2023**. 95(10): p. e29197.
38. Haycox, C.L., et al., *Trichodysplasia spinulosa--a newly described folliculocentric viral infection in an immunocompromised host*. J Investig Dermatol Symp Proc, **1999**. 4(3): p. 268-71.
39. Nguyen, K.D., et al., *Human polyomavirus 6 and 7 are associated with pruritic and dyskeratotic dermatoses*. J Am Acad Dermatol, **2017**. 76(5): p. 932-940 e3.
40. Babakir-Mina, M., et al., *The human polyomaviruses KI and WU: virological background and clinical implications*. Apmis, **2013**. 121(8): p. 746-54.

41. Nguyen, N.L., B.M. Le, and D. Wang, *Serologic evidence of frequent human infection with WU and KI polyomaviruses*. *Emerg Infect Dis*, **2009**. 15(8): p. 1199-205.
42. Cason, C., et al., *Antibody response to polyomavirus primary infection: high seroprevalence of Merkel cell polyomavirus and lymphoid tissue involvement*. *Journal of Neurovirology*, **2018**. 24(3): p. 314-322.
43. Kean, J.M., et al., *Seroepidemiology of human polyomaviruses*. *PLoS Pathog*, **2009**. 5(3): p. e1000363.
44. Teras, L.R., et al., *Prediagnostic circulating polyomavirus antibody levels and risk of non-Hodgkin lymphoma*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2015**. 24(2): p. 477-80.
45. Antonsson, A., et al., *Prevalence and stability of antibodies to thirteen polyomaviruses and association with cutaneous squamous cell carcinoma: A population-based study*. *J Clin Virol*, **2018**. 101: p. 34-37.
46. Bialasiewicz, S., et al., *Detection of BK, JC, WU, or KI polyomaviruses in faecal, urine, blood, cerebrospinal fluid and respiratory samples*. *J Clin Virol*, **2009**. 45(3): p. 249-54.
47. Suzuki, A., et al., *Respiratory viruses from hospitalized children with severe pneumonia in the Philippines*. *BMC Infect Dis*, **2012**. 12: p. 267.
48. Nunes, M.C., et al., *Polyomaviruses-associated respiratory infections in HIV-infected and HIV-uninfected children*. *J Clin Virol*, **2014**. 61(4): p. 571-8.
49. Csoma, E., et al., *Novel human polyomaviruses in pregnancy: higher prevalence of BKPyV, but no WUPyV, KIPyV and HPyV9*. *J Clin Virol*, **2012**. 55(3): p. 262-5.
50. Prezioso, C., et al., *KI and WU Polyomavirus in Respiratory Samples of SARS-CoV-2 Infected Patients*. *Microorganisms*, **2021**. 9(6).
51. Astegiano, S., et al., *Prevalence and clinical impact of polyomaviruses KI and WU in lung transplant recipients*. *Transplant Proc*, **2010**. 42(4): p. 1275-8.
52. Wurzel, D.F., et al., *Respiratory virus detection in nasopharyngeal aspirate versus bronchoalveolar lavage is dependent on virus type in children with chronic respiratory symptoms*. *J Clin Virol*, **2013**. 58(4): p. 683-8.
53. Rao, S., et al., *WU and KI polyomavirus infections in Filipino children with lower respiratory tract disease*. *J Clin Virol*, **2016**. 82: p. 112-118.
54. Teramoto, S., et al., *Detection of KI polyomavirus and WU polyomavirus DNA by real-time polymerase chain reaction in nasopharyngeal swabs and in normal lung and lung adenocarcinoma tissues*. *Microbiol Immunol*, **2011**. 55(7): p. 525-30.
55. Csoma, E., et al., *Prevalence of WU and KI polyomaviruses in plasma, urine, and respiratory samples from renal transplant patients*. *J Med Virol*, **2011**. 83(7): p. 1275-8.
56. Siebrasse, E.A., et al., *Human polyomaviruses in children undergoing transplantation, United States, 2008-2010*. *Emerg Infect Dis*, **2012**. 18(10): p. 1676-9.
57. Csoma, E., et al., *WU and KI polyomaviruses in respiratory, blood and urine samples from renal transplant patients*. *J Clin Virol*, **2015**. 64: p. 28-33.
58. Bialasiewicz, S., et al., *Detection of Recently Discovered Human Polyomaviruses in a Longitudinal Kidney Transplant Cohort*. *American Journal of Transplantation*, **2016**. 16(9): p. 2734-2740.
59. Babakir-Mina, M., et al., *Identification of the novel KI polyomavirus in paranasal and lung tissues (vol 81, pg 558, 2009)*. *Journal of Medical Virology*, **2009**. 81(4): p. 761-761.

60. Bergallo, M., et al., *Quantitative detection of the new polyomaviruses KI, WU and Merkel cell virus in transbronchial biopsies from lung transplant recipients*. J Clin Pathol, **2010**. 63(8): p. 722-5.
61. Babakir-Mina, M., et al., *Identification of the Novel KI Polyomavirus in Paranasal and Lung Tissues*. Journal of Medical Virology, **2009**. 81(3): p. 558-561.
62. Csoma, E., et al., *Survey of KI, WU, MW, and STL Polyomavirus in Cancerous and Non-Cancerous Lung Tissues*. Pathobiology, **2017**.
63. Okada, M., et al., *WU polyomavirus detected in respiratory tract specimens from young children in Japan*. Pediatr Int, **2013**. 55(4): p. 536-7.
64. Payungporn, S., et al., *Prevalence and molecular characterization of WU/KI polyomaviruses isolated from pediatric patients with respiratory disease in Thailand*. Virus Res, **2008**. 135(2): p. 230-6.
65. van der Zalm, M.M., et al., *Prevalence and pathogenicity of WU and KI polyomaviruses in children, the Netherlands*. Emerg Infect Dis, **2008**. 14(11): p. 1787-9.
66. Dehority, W.N., et al., *Complete Genome Sequence of a KI Polyomavirus Isolated From an Otherwise Healthy Child With Severe Lower Respiratory Tract Infection*. Journal of Medical Virology, **2017**. 89(5): p. 926-930.
67. Bialasiewicz, S., et al., *A newly reported human polyomavirus, KI virus, is present in the respiratory tract of Australian children*. J Clin Virol, **2007**. 40(1): p. 15-8.
68. Song, X., et al., *Characterization of the non-coding control region of polyomavirus KI isolated from nasopharyngeal samples from patients with respiratory symptoms or infection and from blood from healthy blood donors in Norway*. J Gen Virol, **2016**. 97(7): p. 1647-1657.
69. Csoma, E., et al., *Study of Karolinska Institutet and Washington University polyomaviruses in tonsil, adenoid, throat swab and middle ear fluid samples*. Future Microbiology, **2018**. 13(16): p. 1719-1730.
70. Sharp, C.P., et al., *Reactivation and mutation of newly discovered WU, KI, and Merkel cell carcinoma polyomaviruses in immunosuppressed individuals*. J Infect Dis, **2009**. 199(3): p. 398-404.
71. Bergallo, M., et al., *Real Time PCR TaqMan assays for detection of polyomaviruses KIV and WUV in clinical samples*. Journal of Virological Methods, **2009**. 162(1-2): p. 69-74.
72. Kamminga, S., et al., *Prevalence of DNA of fourteen human polyomaviruses determined in blood donors*. Transfusion, **2019**. 59(12): p. 3689-3697.
73. Kamminga, S., et al., *Seroprevalence of fourteen human polyomaviruses determined in blood donors*. PLoS One, **2018**. 13(10).
74. Karachaliou, M., et al., *Is early life exposure to polyomaviruses and herpesviruses associated with obesity indices and metabolic traits in childhood?* Int J Obes (Lond), **2018**. 42(9): p. 1590-1601.
75. Sumino, K.C., et al., *Detection of respiratory viruses and the associated chemokine responses in serious acute respiratory illness*. Thorax, **2010**. 65(7): p. 639-44.
76. Venter, M., A. Visser, and R. Lassauniere, *Human polyomaviruses, WU and KI in HIV exposed children with acute lower respiratory tract infections in hospitals in South Africa*. J Clin Virol, **2009**. 44(3): p. 230-4.
77. Wattier, R.L., et al., *Role of human polyomaviruses in respiratory tract disease in young children*. Emerg Infect Dis, **2008**. 14(11): p. 1766-8.

78. Siebrasse, E.A., et al., *WU Polyomavirus in Respiratory Epithelial Cells from Lung Transplant Patient with Job Syndrome*. *Emerging Infectious Diseases*, **2015**. 21(1): p. 103-106.
79. Siebrasse, E.A., et al., *Multiorgan WU Polyomavirus Infection in Bone Marrow Transplant Recipient*. *Emerging Infectious Diseases*, **2016**. 22(1): p. 24-31.
80. Miller, M.A., et al., *WU polyomavirus in patients infected with HIV or hepatitis C virus, Connecticut, USA, 2007*. *Emerg Infect Dis*, **2009**. 15(7): p. 1095-7.
81. Ren, L., et al., *WU polyomavirus in fecal specimens of children with acute gastroenteritis, China*. *Emerg Infect Dis*, **2009**. 15(1): p. 134-5.
82. Prezioso, C., et al., *Polyomaviruses shedding in stool of patients with hematological disorders: detection analysis and study of the non-coding control region's genetic variability*. *Medical Microbiology and Immunology*, **2019**. 208(6): p. 845-854.
83. Kantola, K., et al., *Merkel cell polyomavirus DNA in tumor-free tonsillar tissues and upper respiratory tract samples: implications for respiratory transmission and latency*. *J Clin Virol*, **2009**. 45(4): p. 292-5.
84. Comar, M., et al., *Secondary lymphoid tissue as an important site for WU polyomavirus infection in immunocompetent children*. *J Med Virol*, **2011**. 83(8): p. 1446-50.
85. Touinssi, M., et al., *Molecular epidemiology of KI and WU polyomaviruses in healthy blood donors, south-eastern France*. *J Med Virol*, **2013**. 85(8): p. 1444-6.
86. Kourieh, A., et al., *Prevalence and risk factors of human polyomavirus infections in non-malignant tonsils and gargles: the SPLIT study*. *J Gen Virol*, **2018**. 99(12): p. 1686-1698.
87. Neske, F., et al., *Detection of WU polyomavirus DNA by real-time PCR in nasopharyngeal aspirates, serum, and stool samples*. *J Clin Virol*, **2009**. 44(2): p. 115-8.
88. Csoma, E., et al., *No Evidence of Human Polyomavirus 9, WU and KI DNA in Kidney and Urinary Bladder Tumour Tissue Samples*. *Pathobiology*, **2016**. 83(5): p. 252-7.
89. Wang, C., et al., *Isolation and characterization of WUPyV in polarized human airway epithelial cells*. *Bmc Infectious Diseases*, **2020**. 20(1).
90. Tanda, E.T., et al., *Merkel Cell Carcinoma: An Immunotherapy Fairy-Tale?* *Front Oncol*, **2021**. 11: p. 739006.
91. Toker, C., *Trabecular carcinoma of the skin*. *Arch Dermatol*, **1972**. 105(1): p. 107-10.
92. Kaae, J., et al., *Merkel cell carcinoma: incidence, mortality, and risk of other cancers*. *J Natl Cancer Inst*, **2010**. 102(11): p. 793-801.
93. Silling, S., et al., *Epidemiology of Merkel Cell Polyomavirus Infection and Merkel Cell Carcinoma*. *Cancers (Basel)*, **2022**. 14(24).
94. Zaggana, E., et al., *Merkel Cell Carcinoma-Update on Diagnosis, Management and Future Perspectives*. *Cancers (Basel)*, **2022**. 15(1).
95. Sheu, J.C., et al., *Polyomaviruses of the skin: integrating molecular and clinical advances in an emerging class of viruses*. *Br J Dermatol*, **2019**. 180(6): p. 1302-1311.
96. Wijaya, W.A., et al., *Prevalence of Merkel Cell Polyomavirus in Normal and Lesional Skin: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *Front Oncol*, **2022**. 12: p. 868781.

97. Spurgeon, M.E. and P.F. Lambert, *Merkel cell polyomavirus: A newly discovered human virus with oncogenic potential*. *Virology*, **2013**. 435(1): p. 118-30.
98. Yang, J.F., W. Liu, and J. You, *Characterization of molecular mechanisms driving Merkel cell polyomavirus oncogene transcription and tumorigenic potential*. *PLoS Pathog*, **2023**. 19(8): p. e1011598.
99. Garbutcheon-Singh, K.B., et al., *Trends in the incidence of Merkel cell carcinoma in Victoria, Australia, between 1986 and 2016*. *Australas J Dermatol*, **2020**. 61(1): p. e34-e38.
100. Krickler, A., et al., *High Ambient Solar UV Correlates with Greater Beta HPV Seropositivity in New South Wales, Australia*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **2020**. 29(1): p. 49-56.
101. Garneski, K.M., et al., *Merkel cell polyomavirus is more frequently present in North American than Australian Merkel cell carcinoma tumors*. *J Invest Dermatol*, **2009**. 129(1): p. 246-8.
102. Agelli, M. and L.X. Clegg, *Epidemiology of primary Merkel cell carcinoma in the United States*. *J Am Acad Dermatol*, **2003**. 49(5): p. 832-41.
103. van der Zwan, J.M., et al., *Rare neuroendocrine tumours: results of the surveillance of rare cancers in Europe project*. *Eur J Cancer*, **2013**. 49(11): p. 2565-78.
104. Schadendorf, D., et al., *Merkel cell carcinoma: Epidemiology, prognosis, therapy and unmet medical needs*. *Eur J Cancer*, **2017**. 71: p. 53-69.
105. DeCaprio, J.A., *Merkel cell polyomavirus and Merkel cell carcinoma*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **2017**. 372(1732).
106. Sunshine, J.C., et al., *Are there multiple cells of origin of Merkel cell carcinoma?* *Oncogene*, **2018**. 37(11): p. 1409-1416.
107. Norkiene, M., et al., *Production of recombinant VP1-derived virus-like particles from novel human polyomaviruses in yeast*. *BMC Biotechnol*, **2015**. 15: p. 68.
108. Karachaliou, M., et al., *The Natural History of Human Polyomaviruses and Herpesviruses in Early Life-The Rhea Birth Cohort in Greece*. *American Journal of Epidemiology*, **2016**. 183(7): p. 671-679.
109. Pastrana, D.V., et al., *Quantitation of human seroresponsiveness to Merkel cell polyomavirus*. *PLoS Pathog*, **2009**. 5(9): p. e1000578.
110. Robles, C., et al., *Seroreactivity against Merkel cell polyomavirus and other polyomaviruses in chronic lymphocytic leukaemia, the MCC-Spain study*. *Journal of General Virology*, **2015**. 96: p. 2286-2292.
111. Hashida, Y., et al., *Genetic Variability of the Noncoding Control Region of Cutaneous Merkel Cell Polyomavirus: Identification of Geographically Related Genotypes*. *J Infect Dis*, **2018**. 217(10): p. 1601-1611.
112. Moens, U., C. Prezioso, and V. Pietropaolo, *Genetic Diversity of the Noncoding Control Region of the Novel Human Polyomaviruses*. *Viruses*, **2020**. 12(12).
113. Martel-Jantin, C., et al., *Genetic variability and integration of Merkel cell polyomavirus in Merkel cell carcinoma*. *Virology*, **2012**. 426(2): p. 134-42.
114. Houben, R., et al., *Merkel Cell Polyomavirus: Infection, Genome, Transcripts and Its Role in Development of Merkel Cell Carcinoma*. *Cancers (Basel)*, **2023**. 15(2).
115. Andres, C., et al., *Prevalence of MCPyV in Merkel cell carcinoma and non-MCC tumors*. *J Cutan Pathol*, **2010**. 37(1): p. 28-34.
116. Scola, N., et al., *Prevalence of human polyomaviruses in common and rare types of non-Merkel cell carcinoma skin cancer*. *Br J Dermatol*, **2012**. 167(6): p. 1315-20.

117. Mohebbi, E., et al., *Low viral load of Merkel cell polyomavirus in Iranian patients with head and neck squamous cell carcinoma: Is it clinically important?* J Med Virol, **2018**. 90(2): p. 344-350.
118. Prezioso, C., et al., *Prevalence of MCPyV, HPyV6, HPyV7 and TSPyV in Actinic Keratosis Biopsy Specimens.* Viruses, **2022**. 14(2).
119. Sadeghi, M., et al., *Newly discovered KI, WU, and Merkel cell polyomaviruses: no evidence of mother-to-fetus transmission.* Virol J, **2010**. 7: p. 251.
120. Sadeghi, F., et al., *Detection of Merkel cell polyomavirus large T-antigen sequences in human central nervous system tumors.* J Med Virol, **2015**. 87(7): p. 1241-7.
121. Bialasiewicz, S., et al., *Merkel cell polyomavirus DNA in respiratory specimens from children and adults.* Emerg Infect Dis, **2009**. 15(3): p. 492-4.
122. Prezioso, C., et al., *Merkel Cell Polyomavirus DNA Detection in Respiratory Samples: Study of a Cohort of Patients Affected by Cystic Fibrosis.* Viruses, **2019**. 11(6).
123. Wang, Y., et al., *Multiplex analysis of Human Polyomavirus diversity in kidney transplant recipients with BK virus replication.* J Clin Virol, **2019**. 120: p. 6-11.
124. Fukumoto, H., et al., *Frequent detection of Merkel cell polyomavirus DNA in sera of HIV-1-positive patients.* Virol J, **2013**. 10: p. 84.
125. Liu, W., et al., *Identifying the Target Cells and Mechanisms of Merkel Cell Polyomavirus Infection.* Cell Host Microbe, **2016**. 19(6): p. 775-87.
126. Passerini, S., et al., *Detection Analysis and Study of Genomic Region Variability of JCPyV, BKPyV, MCPyV, HPyV6, HPyV7 and QPyV in the Urine and Plasma of HIV-1-Infected Patients.* Viruses, **2022**. 14(11).
127. Polesel, J., et al., *Urinary human polyomavirus and papillomavirus infection and bladder cancer risk.* Br J Cancer, **2012**. 106(1): p. 222-6.
128. Herberhold, S., et al., *Human polyomavirus and human papillomavirus prevalence and viral load in non-malignant tonsillar tissue and tonsillar carcinoma.* Med Microbiol Immunol, **2017**. 206(2): p. 93-103.
129. Hashida, Y., et al., *Detection of Merkel cell polyomavirus with a tumour-specific signature in non-small cell lung cancer.* Br J Cancer, **2013**. 108(3): p. 629-37.
130. Varga, E., et al., *Detection of Merkel cell polyomavirus DNA in Merkel cell carcinomas.* Br J Dermatol, **2009**. 161(4): p. 930-2.
131. Mokanszki, A., et al., *Molecular Profiling of Merkel Cell Polyomavirus-Associated Merkel Cell Carcinoma and Cutaneous Melanoma.* Diagnostics (Basel), **2021**. 11(2).
132. Horvath, K.B., et al., *Epidemiological, Clinicopathological and Virological Features of Merkel Cell Carcinomas in Medical Center of University of Pecs, Hungary (2007-2012).* Pathol Oncol Res, **2016**. 22(1): p. 71-7.
133. Klufah, F., et al., *Emerging role of human polyomaviruses 6 and 7 in human cancers.* Infect Agent Cancer, **2021**. 16(1): p. 35.
134. Karachaliou, M., et al., *Common infections with polyomaviruses and herpesviruses and neuropsychological development at 4years of age, the Rhea birth cohort in Crete, Greece.* Journal of Child Psychology and Psychiatry, **2016**. 57(11): p. 1268-1276.
135. Egan, K.M., et al., *Prospective investigation of polyomavirus infection and the risk of adult glioma.* Sci Rep, **2021**. 11(1): p. 9642.
136. Hashida, Y., et al., *Prevalence and Genetic Variability of Human Polyomaviruses 6 and 7 in Healthy Skin Among Asymptomatic Individuals.* J Infect Dis, **2018**. 217(3): p. 483-493.

137. Beckervordersandforth, J., et al., *Frequent detection of human polyomavirus 6 in keratoacanthomas*. *Diagn Pathol*, **2016**. 11(1): p. 58.
138. Fava, P., et al., *HPyV6, HPyV7 and TSPyV DNA sequences detection in skin disease patients and healthy subjects*. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, **2016**. 30(4): p. 624-7.
139. Bergallo, M., et al., *DNA from Human Polyomaviruses, MWPyV, HPyV6, HPyV7, HPyV9 and HPyV12 in Cutaneous T-cell Lymphomas*. *Anticancer Res*, **2018**. 38(7): p. 4111-4114.
140. Imajoh, M., et al., *Prevalence and viral DNA loads of three novel human polyomaviruses in skin cancers from Japanese patients*. *J Dermatol*, **2013**. 40(8): p. 657-60.
141. Venceslau, M.T., et al., *Quantification of human polyomaviruses MCPyV and HPyV6 in malignant and non-malignant skin lesions*. *An Bras Dermatol*, **2023**. 98(2): p. 198-201.
142. Prezioso, C., et al., *HPyV6 and HPyV7 in urine from immunocompromised patients*. *Virol J*, **2021**. 18(1): p. 24.
143. Hampras, S.S., et al., *Natural history of polyomaviruses in men: the HPV infection in men (HIM) study*. *J Infect Dis*, **2015**. 211(9): p. 1437-46.
144. Wieland, U., et al., *Human polyomaviruses 6, 7, 9, 10 and Trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in HIV-infected men*. *J Gen Virol*, **2014**.
145. Rockett, R.J., et al., *Detection of novel polyomaviruses, TSPyV, HPyV6, HPyV7, HPyV9 and MWPyV in feces, urine, blood, respiratory swabs and cerebrospinal fluid*. *PLoS One*, **2013**. 8(5): p. e62764.
146. Zheng, W.Z., et al., *Human polyomavirus type six in respiratory samples from hospitalized children with respiratory tract infections in Beijing, China*. *Virol J*, **2015**. 12: p. 166.
147. Zanella, M.C., et al., *Longitudinal Detection of Twenty DNA and RNA Viruses in Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients Plasma*. *Viruses*, **2023**. 15(4).
148. Gossai, A., et al., *Seroepidemiology of Human Polyomaviruses in a US Population*. *American Journal of Epidemiology*, **2016**. 183(1): p. 61-69.
149. Wang, Y., et al., *Occurrence of newly discovered human polyomaviruses in skin of liver transplant recipients and their relation with squamous cell carcinoma in situ and actinic keratosis - a single-center cohort study*. *Transpl Int*, **2019**. 32(5): p. 516-522.
150. Ribero, S., et al., *No evidence of association of human polyomaviruses V6, V7 and V12, and Saint Louis human polyomavirus with squamous cell carcinoma*. *Br J Dermatol*, **2017**. 177(4): p. e112-e113.
151. Ho, J., et al., *Human polyomavirus 7-associated pruritic rash and viremia in transplant recipients*. *J Infect Dis*, **2015**. 211(10): p. 1560-5.
152. Dona, M.G., et al., *Prevalence of 13 polyomaviruses in actinic keratosis and matched healthy skin samples of immunocompetent individuals*. *Infect Agent Cancer*, **2022**. 17(1): p. 59.
153. Salakova, M., et al., *Detection of human polyomaviruses MCPyV, HPyV6, and HPyV7 in malignant and non-malignant tonsillar tissues*. *J Med Virol*, **2016**. 88(4): p. 695-702.
154. Kolia-Diafouka, P., et al., *Detection of four human polyomaviruses (MCPyV, HPyV6, HPyV7 and TSPyV) in cervical specimens from HIV-infected and HIV-uninfected women*. *Sex Transm Infect*, **2016**. 92(7): p. 492-494.

155. Rennspiess, D., et al., *Detection of human polyomavirus 7 in human thymic epithelial tumors*. J Thorac Oncol, **2015**. 10(2): p. 360-6.
156. Klufah, F., et al., *High Prevalence of Human Polyomavirus 7 in Cholangiocarcinomas and Adjacent Peritumoral Hepatocytes: Preliminary Findings*. Microorganisms, **2020**. 8(8).
157. Jose, A., et al., *Trichodysplasia spinulosa: Case reports and review of literature*. Transpl Infect Dis, **2020**. 22(5): p. e13342.
158. Chen, T., et al., *Seroepidemiology of the newly found trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus*. J Infect Dis, **2011**. 204(10): p. 1523-6.
159. van der Meijden, E., et al., *Different serologic behavior of MCPyV, TSPyV, HPyV6, HPyV7 and HPyV9 polyomaviruses found on the skin*. PLoS One, **2013**. 8(11): p. e81078.
160. van Rijn, A.L., et al., *Impact of HPyV9 and TSPyV coinfection on the development of BK polyomavirus viremia and associated nephropathy after kidney transplantation*. J Med Virol, **2019**. 91(6): p. 1142-1147.
161. van der Meijden, E., et al., *Primary Polyomavirus Infection, Not Reactivation, as the Cause of Trichodysplasia Spinulosa in Immunocompromised Patients*. J Infect Dis, **2017**. 215(7): p. 1080-1084.
162. Bialasiewicz, S., et al., *Potential Route of Transmission for Trichodysplasia Spinulosa Polyomavirus*. J Infect Dis, **2017**. 215(7): p. 1175-1176.
163. Sadeghi, M., et al., *Detection of TS polyomavirus DNA in tonsillar tissues of children and adults: evidence for site of viral latency*. J Clin Virol, **2014**. 59(1): p. 55-8.
164. Fukumoto, H., et al., *Seroprevalence of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus in Japan*. J Clin Virol, **2015**. 65: p. 76-82.
165. van der Meijden, E., et al., *Seroprevalence of trichodysplasia spinulosa-associated polyomavirus*. Emerg Infect Dis, **2011**. 17(8): p. 1355-63.
166. Sadeghi, M., et al., *Multiplex detection in tonsillar tissue of all known human polyomaviruses*. BMC Infectious Diseases, **2017**. 17(1): p. 409.
167. Kamminga, S., et al., *JC and Human polyomavirus 9 after kidney transplantation: An exploratory serological cohort study*. J Clin Virol, **2021**. 143: p. 104944.
168. Kuypers, J., et al., *WU and KI polyomaviruses in respiratory samples from allogeneic hematopoietic cell transplant recipients*. Emerg Infect Dis, **2012**. 18(10): p. 1580-8.
169. Nicol, J.T.J., et al., *Age-Specific Seroprevalences of Merkel Cell Polyomavirus, Human Polyomaviruses 6, 7, and 9, and Trichodysplasia Spinulosa-Associated Polyomavirus*. Clinical and Vaccine Immunology, **2013**. 20(3): p. 363-368.
170. Sroller, V., et al., *Seroprevalence rates of HPyV6, HPyV7, TSPyV, HPyV9, MWPyV and KIPyV polyomaviruses among the healthy blood donors*. Journal of Medical Virology, **2016**. 88(7): p. 1254-1261.
171. Moens, U., et al., *Serological cross-reactivity between human polyomaviruses*. Rev Med Virol, **2013**. 23(4): p. 250-64.
172. Carter, J.J., et al., *Association of Merkel Cell Polyomavirus-Specific Antibodies With Merkel Cell Carcinoma*. Jnci-Journal of the National Cancer Institute, **2009**. 101(21): p. 1510-1522.
173. Neske, F., et al., *High prevalence of antibodies against polyomavirus WU, polyomavirus KI, and human bocavirus in German blood donors*. BMC Infect Dis, **2010**. 10: p. 215.
174. Mourez, T., et al., *Polyomaviruses KI and WU in immunocompromised patients with respiratory disease*. Emerg Infect Dis, **2009**. 15(1): p. 107-9.

175. Huijskens, E.G., et al., *Human polyomavirus KI and WU in adults with community acquired pneumonia in The Netherlands, 2008-2009*. J Clin Virol, **2010**. 49(4): p. 306-7.
176. Bialasiewicz, S., et al., *Development and evaluation of real-time PCR assays for the detection of the newly identified KI and WU polyomaviruses*. J Clin Virol, **2007**. 40(1): p. 9-14.
177. Greer, R.M., et al., *Do rhinoviruses reduce the probability of viral co-detection during acute respiratory tract infections?* J Clin Virol, **2009**. 45(1): p. 10-5.
178. Haapanen, M., et al., *The impact of the lockdown and the re-opening of schools and day cares on the epidemiology of SARS-CoV-2 and other respiratory infections in children - A nationwide register study in Finland*. Eclinicalmedicine, **2021**. 34.
179. The Lancet Respiratory, M., *Patterns of respiratory infections after COVID-19*. Lancet Respir Med, **2024**. 12(1): p. 1.
180. Zhou, X., et al., *Prevalence and viral loads of polyomaviruses BKPyV, JCPyV, MCPyV, TSPyV and NJPyV and hepatitis viruses HBV, HCV and HEV in HIV-infected patients in China*. Sci Rep, **2020**. 10(1): p. 17066.
181. Zhang, C., et al., *Seroprevalence of Merkel cell polyomavirus in the general rural population of Anyang, China*. PLoS One, **2014**. 9(9): p. e106430.
182. Robles, C., et al., *Bladder cancer and seroreactivity to BK, JC and Merkel cell polyomaviruses: the Spanish bladder cancer study*. Int J Cancer, **2013**. 133(3): p. 597-603.
183. Mazziotta, C., et al., *Immunological evidence of an early seroconversion to oncogenic Merkel cell polyomavirus in healthy children and young adults*. Immunology, **2023**. 168(4): p. 671-683.
184. Martel-Jantin, C., et al., *Merkel cell polyomavirus infection occurs during early childhood and is transmitted between siblings*. J Clin Virol, **2013**. 58(1): p. 288-91.
185. Sroller, V., et al., *Seroprevalence rates of BKV, JCV, and MCPyV polyomaviruses in the general Czech Republic population*. J Med Virol, **2014**. 86(9): p. 1560-8.
186. Nicol, J.T., et al., *Seroprevalence and cross-reactivity of human polyomavirus 9*. Emerg Infect Dis, **2012**. 18(8): p. 1329-32.
187. Hashida, Y., et al., *Ecology of Merkel Cell Polyomavirus in Healthy Skin Among Individuals in an Asian Cohort*. J Infect Dis, **2016**. 213(11): p. 1708-16.
188. Heath, M., et al., *Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: the AEIOU features*. J Am Acad Dermatol, **2008**. 58(3): p. 375-81.
189. Mazziotta, C., et al., *Serum Antibodies Against the Oncogenic Merkel Cell Polyomavirus Detected by an Innovative Immunological Assay With Mimotopes in Healthy Subjects*. Front Immunol, **2021**. 12: p. 676627.
190. Vahabpour, R., et al., *Prevalence of Merkel Cell Polyomavirus in Tehran: An Age-Specific Serological Study*. Iran Red Crescent Med J, **2016**. 18(5): p. e26097.
191. Robles, C., et al., *Antibody response to Merkel cell polyomavirus associated with incident lymphoma in the Epilymph case-control study in Spain*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, **2012**. 21(9): p. 1592-8.
192. Viscidi, R.P., et al., *Age-specific seroprevalence of Merkel cell polyomavirus, BK virus, and JC virus*. Clin Vaccine Immunol, **2011**. 18(10): p. 1737-43.
193. Touze, A., et al., *Generation of Merkel Cell Polyomavirus (MCV)-Like Particles and Their Application to Detection of MCV Antibodies*. Journal of Clinical Microbiology, **2010**. 48(5): p. 1767-1770.

194. Li, T.C., et al., *Characterization of self-assembled virus-like particles of Merkel cell polyomavirus*. PLoS One, **2015**. 10(2): p. e0115646.
195. Tolstov, Y.L., et al., *Human Merkel cell polyomavirus infection II. MCV is a common human infection that can be detected by conformational capsid epitope immunoassays*. Int J Cancer, **2009**. 125(6): p. 1250-6.
196. Martel-Jantin, C., et al., *Molecular epidemiology of merkel cell polyomavirus: evidence for geographically related variant genotypes*. J Clin Microbiol, **2014**. 52(5): p. 1687-90.

9. TÁRGYSZAVAK

szeroprevalencia
DNS prevalencia
KI polyomavírus (KIPyV)
WU polyomavírus (WUPyV)
Merkel sejt polyomavírus (MCPyV)
Humán polyomavírus 6 (HPyV6)
Humán polyomavírus 7 (HPyV7)
Trichodysplasia spinulosa asszociált polyomavírus (TSPyV)
Súlyos akut légúti szindróma koronavírus 2 (SARS-CoV-2)

KEYWORDS

seroprevalence
prevalence
KI polyomavirus (KIPyV)
WU polyomavirus (WUPyV)
Merkel cell polyomavirus (MCPyV)
Human polyomavirus 6 (HPyV6)
Human polyomavirus 7 (HPyV7)
Trichodysplasia spinulosa associated polyomavirus (TSPyV)
Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálával tartozom témavezetőmnek, dr. Csoma Eszternek útmutatásáért, tanácsaiért, hogy türelemmel és készséggel segítette az elmúlt négy évben munkámat, mellyel jelentősen hozzájárult szakmai ismereteim bővítéséhez és doktori értekezésem elkészüléséhez.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Kónya József intézetvezetőnek, hogy az Orvosi Mikrobiológiai Intézetben végezhettem kutatásaimat.

Köszönet illeti Katona Melinda munkatársamat és kutatócsoportunk tagját PhD tanulmányaim során nyújtott segítségéért és az örömteli, laborban töltött órákért.

Köszönetemet szeretném kifejezni az Orvosi Mikrobiológia valamennyi dolgozójának, akik bármilyen módon is hozzájárultak munkám előremeneteléhez.

Köszönet illet minden beteget, vizsgálatba bevont személyt, akik mintái nélkül a kutatás nem valósulhatott volna meg.

Végül, de nem utolsó sorban mérhetetlen köszönet illeti a családomat, akik az elmúlt négy évben támogattak és bíztattak céljaim elérésében.

A munka támogatói

A munka a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal FK128533 számú pályázati finanszírozásával, valamint a TKP2021-EGA-19 számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a TKP2021-EGA pályázati program finanszírozásában valósult meg. Értekezésem elkészültét a Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-4-I-DE-178 Kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készítettem.

11. FÜGGELÉK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/430/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Jeles Krisztina
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10069548

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. Katona, M., **Jeles, K.**, Kovács, R. L., Csoma, E.: KI and WU Polyomaviruses: seroprevalence Study and DNA Prevalence in SARS-CoV-2 RNA Positive and Negative Respiratory Samples.
Microorganisms. 10 (4), 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms10040752>
IF: 4.5
2. **Jeles, K.**, Katona, M., Csoma, E.: Seroprevalence of Four Polyomaviruses Linked to Dermatological Diseases: New Findings and a Comprehensive Analysis.
Viruses-Basel. 14 (10), 1-16, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/v14102282>
IF: 4.7





További közlemények

3. Katona, M., **Jeles, K.**, Takács, P., Csoma, E.: DNA and seroprevalence study of MW and STL polyomaviruses.

J. Med. Virol. 96 (8), 1-10, 2024.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jmv.29860>

IF: 6.8 (2023)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 16

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
9,2**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.08.22.

