

**Laboratóriumi technikák összehasonlító analízise a kanyaró ellenes
antitest titer detektálás tükrében:**

**Immun-szerológia esszéfejlesztés a kanyaró/MMR vakcina hosszú
távú hatékonyságának monitoringására, valamint ennek gyakorlati és
elméleti hasznának értékelése**

Doktori (PhD) értekezés tézisei
Böröcz Katalin

Témavezető:
Prof. Dr. Németh Péter

Programvezető:
Prof. Dr. Berki Tímea

Doktori Iskola Vezetője
Prof. Dr. Reglődi Dóra

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
Immunológiai és Biotechnológiai Intézet



P é c s

2021

1 Rövid összefoglalás

Az infekciós immunitás vizsgálatának napjainkban kiemelt jelentősége van. Az oltás továbbra is a közegészségügyben elérhető egyik legbiztonságosabb és leghatékonyabb megelőző intézkedés a fertőző betegségek elkerülésére, amely közvetlen és közvetett immunitást (nyájimmunitás) eredményez a beoltott egyéneknél. (1–3). Dacára annak, hogy Európában az 1960-as évek óta rendelkezésre áll egy biztonságos és hatékony két dózisos kanyaró / MMR oltás, a magas átoltottság elérése továbbra is kihívást jelent (4–7). Bár Magyarországon a kanyaró (ma MMR) vakcina 1969 óta kötelező, minek következtében az átoltottságot 99% -ra becsülik (WHO adatok), előfordulhatnak oltási csoport-specifikus immunitási hiányosságok (8–15). A szuboptimális oltás/korcsoporthoz specifikus vakcina hatékonyság negatív hatást gyakorol az összesített oltás-indukálta védelemre is. Egy nemrégiben előfordult kisebb kanyarójárvány (Makó és Szeged térségéhez köthető járvány, 2017), bebizonyította, hogy bizonyos kanyaró vakcinák - különös tekintettel az oltásrend kezdeti szakaszában alkalmazott oltóanyagokra – nem váltották ki a kívánt immunválaszt. A következőképp létrejött immunizációs hiányosság(ok) előrevetítik a további járványok kialakulásának lehetőségét (10,15). Az immunitás meglétére irányuló szűrővizsgálatoknak kiemelt szerepe van a preventív közegészségügyi stratégiák kidolgozásában, főleg manapság, amikor a COVID-19 világjárvány kapcsán nyilvánvalóvá vált a gyors tesztelés jelentősége. A kanyaró már korábban is világméretű problémát jelentett, ami napjainkban a COVID-19 nyomására tovább súlyosbodott. A pandémia hatására megszakított oltási protokollok immunizálási hiányosságokhoz vezetnek, mely elősegítheti a kanyaró ismételt felbukkanását (4). A kanyaró rendkívül fertőzőképes betegség, melynek szaporodási rátája (R_0) 12-18-re becsült (szemben például a COVID-19 2.9-3.4 –as értékével). Mindennek okán létrehoztunk egy nagy teljesítményű, időtakarékos, költséghatékony és

standardizált 'tripla' immunszerológiai tesztet, mely alkalmas a kanyaró, mumpsz és rubeola ellenes ellenanyagok (IgG) humán szérumból történő szimultán kimutatására. Tekintve, hogy tesztünk célzottan a nem megfelelő ellenanyagszintek kiszűrésére készült, így képes az alsó mérésstartományokban történő megbízható detektálásra, vagyis jól használható a vírusra fogékony egyének kiszűrésére, vagy épp a "védettségi hézagok" feltérképezésére.

A gyakorlati hasznon túlmenően a jelen tanulmány elméleti jelentőséggel is bír; az adaptív antitestek szintjének összehasonlítása a természetes (auto)antitestekével (nAAb), mely utóbbiról sokáig úgy vélték, hogy nem képes dinamikus adaptációra. Az volt a célunk, hogy számszerű adatokkal támasszuk alá a vakcina-tudomány azon új megközelítését, miszerint a természetes autoantitestek igenis szerepet játszhatnak az immunizálás hatékonyságában (95), mivel a védőoltások nem várt hozadéka lehet, hogy bővítik a természetes antitest repertoárt (16). Ezért összehasonlítottuk a vakcina- (vagy patogén)- indukálta antitest szinteket (melyek a mindenkori kanyaró/MMR oltás nyomán képződtek, >99% -os jelenlegi átoltottsági szinten, melyet tovább erősítettek a vakcinálás korai szakaszában kialakult járványok) a természetes autoantitestek szintjével (anti-citrát szintáz [anti-CS]), anti-DNS topoizomeráz I F4 fragmens [anti-F4]), anti-kettős szájú DNS [anti-dsDNS]), olyan paciensek esetében, akik szisztémás autoimmun betegségekben szenvednek (különös tekintettel az SLE-ben, RA-ban és az SSc-ben érintettek).

Ezzel párhuzamosan vizsgáltuk a potenciálisan károsodott memória B sejtes működést is oly módon, hogy a populáció-szintű kanyaró-ellenes antitest szinteket viszonyítottuk szisztémás autoimmun betegségek mintáinak ugyanezen ellenanyagszintjéhez.

2 CÉLOK

- I. Immuno-esszé fejlesztés: egy olyan hatékony eszköz optimalizálása, mely alkalmas a szuboptimális kanyaró/MMR humorális ellenanyagszintek kiszűrésére
- II. Szero-epidemiológia: nagyszabású, populáció-szintű MMR ellenanyagszint mérés
- III. Összehasonlító tanulmány a szisztémás autoimmun betegségek okán potenciálisan károsodott immunszabályozó funkciók feltérképezésére: lehetséges összefüggések felállítása a természetes (auto)antitestek és a vakcina- vagy fertőzés- indukálta antitestek között

3 ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Szerológiai esszéfejlesztés

3.1.1 *Anti- kanyaró, -mumpsz és -rubeola (IgG) indirekt ELISA használati leírás létrehozása*

3.1.2 *Lemez és érzékenyítő puffer választás*

3.1.3 *A lemez érzékenyítéséből potenciálisan adódó interferenciák kiszűrése*

3.1.4 *Blokkoló- és mintahígító –puffer optimalizálás*

3.1.5 *Kalibrációs görbe és a szérum antitestek szintek számszerű meghatározása*

3.1.6 *Optimális mintahígítás*

3.1.7 *A cut-off értékek meghatározása*

3.1.8 *Műszerplatform*

3.1.9 *Szoftverek, adatok statisztikai kiértékelése*

3.1.10 *Vizsgálati költségek és végrehajtási idő*

3.2 Szero-epidemiológia

3.2.1 *Minták*

3.2.2 *Kategorizálás*

3.2.3 *Szero-epidemiológiai értékelés*

3.3 A természetes (auto)antitestek és a vakcina- vagy fertőzés- indukált antitestek közötti lehetséges kapcsolat

3.3.1 *Minták*

3.3.2 *Összehasonlító ELISA mérések*

3.3.3 *Statisztikai kiértékelés*

4 EREDMÉNYEK I – IMMUNO-ESSZÉ FEJLESZTÉS

4.1 ELISA lemez felületének optimalizálása

A felületnek azon tulajdonsága, hogy fehérjékkel és más biomolekulákkal kölcsönhatásba lépni képesek, alapvető fontosságú, ugyanakkor a vizsgálat különböző lépései során a nem cél- fehérjék vagy biomolekulák nem specifikus kötődése a lemez szabadon maradt kötőhelyeihez hátrányosan befolyásolhatja a vizsgálat eredményeinek specificitását és érzékenységét. Ezért az itt bemutatott eredményeket a mintahígítóval és blokkolóval folytatott optimalizálási kísérletek összefüggésben kell értelmezni. A kipróbált szilárd felületek közül a Nunc Maxisorp nagy kötőképességű lemezt választottuk, mivel elhanyagolható háttérrel rendelkezik, a standard görbék illesztése (R^2) kiváló, és ezek megfelelően magas mérési tartományban helyezkednek el, valamint a parallelitási tesztek jónak bizonyultak (15).

4.2 Az antigén tisztaságának tesztelése

A "három-az-egyben" MMR ELISA-t, -mely teljes vírus antigén repertoáron alapul – tekintettük „cél”, míg a rekombináns, nukleokapszid fehérje alapú kanyaró, mumpsz és rubeola ELISA teszteket „kontroll” tesztnek. Ezen mérési rendszereket egymással párhuzamba állítottuk, hogy megtudjuk; a sejtkultúrából származó, teljes vírus antigénkészlettel érzékenyített lemezek hordozhatnak-e olyan nem kívánt molekulákat, melyek interferenciát okozhatnak, és így ál-pozitív eredményekhez vezethetnek. Ebből a célból Bland-Altman ábrákat használtunk; a két technika ("cél" és "kontroll") eredményeinek arányát (y tengely) az átlagok függvényében ábrázoltuk (x tengely). A kapott adatpontok a ± 1.96 szórás (SD) (95%-os konfidenciaintervallum) tartományba estek, megfigyelhető tendenciák nélkül, ami arra utal, hogy a két módszer összhangban van, ami a "cél" vizsgálatban használt teljes vírusalapú érzékenyítési módszer megfelelő tisztaságát bizonyítja (15).

4.3 Telítő- és mintahígító oldatok optimalizálása

Mint azt cikkünkben is leírtuk (14), a telítő (blokkoló) oldatokat (fehérjetartalmú és fehérjét nem tartalmazók) antigén érzékenyítés nélküli lemezeken teszteltük; csak a blokkoló oldatokkal kezeltük elő a lemezeket (egy éjszakán át 4-6 °C-on), majd a páciens mintákat a protokoll szerint felvittük és teszteltük.

Bebizonyítottuk, hogy a 'Block ACE' és a szarvasmarha bőrből készült zselatinos telítő használatával az abszorbancia értékek a standard növekvő koncentrációját tükrözik, ami nem specifikus kölcsönhatásokra utal. A SynBlock és az ennek költséghatékony alternatívájaként használt, polivinil-alkohol (PVA) alapú 'saját szintetikus blokkoló oldatunk' esetében ilyen nem specifikus reakciók nem voltak megfigyelhetők. Későbbi kísérleteinkhez ez utóbbit használtuk (14).

4.4 Háttérzaj csökkentés

Az alacsony vagy szuboptimális eredmények kimutatására irányuló szerológiai teszteknel kulcsfontosságú, hogy a lehető legtöbb interferenciát (és ebből következően ál-pozitivitást) kiváltó tényezőtől megszabaduljunk. Ezen elv alapján használtuk az úgynevezett 'IgM redukáló puffert' (IgM RB), amely nemcsak az IgM eltávolításában, hanem a nem kívánt, nem kategorizált kötődések visszaszorításában is hatékonyan bizonyult (14).

4.5 Cut-off meghatározás és immuno-esszé precizitás

A vizsgálat pontosságának teszteléséhez saját fejlesztésű tesztünket a már bizonyított, kereskedelmi forgalomban elérhető tesztekkel hasonlítottuk össze. A Cohen's Kappa-féle 'lemez-és-lemez közti' κ statisztikai elemzés 'jelentős' és 'csaknem tökéletes' egyezőségeket mutatott; $0.64 \leq \kappa \leq 0.92$. A küszöbérték (cut-off) meghatározásához használt AUROC analízis ≥ 0.92 értéket adott mindhárom antigén esetén. Az AUROC elemzés alapján, Youden-egyenlet segítségével, a következő szenzitivitáis-specifitási párok kerültek kiválasztásra: 0.985-0.975, 0.935-0.911, 0.989-0.946 (kanyaró, a mumpsz, rubeola estén, sorrendben) (15). Az 'empirikus megközelítés' szerint - amelyet már korábbi tanulmányunkban részleteztünk (14) - a cut-off értéket minden antigéntípusra (kanyaró, mumpsz,

rubeola) a diagnosztikusan szeronegatív mintákhoz tartozó átlagos megfigyelt OD-értékek alapján is meghatároztuk (3x15 minta, OD negatív minta ≤ 0.28 , 0.37, 0.34 a kanyaró, mumpsz és rubeola esetében). A tapasztalati eredmények alapján számított cut-off értékek egyeztek a statisztikailag számított értékekkel.

4.6 Optimális mintahígítás

A minták optimális hígítása 200-szorosnak (0.005 relatív koncentráció) bizonyult, két lépésben, IgM redukáló mintahígító pufferrel kombinálva (14). Ez a módszer megfelelő jelerősséget és reprodukálható különbségeket eredményezett a pozitív és negatív minták között, minimális törzsoldat felhasználásával (14,15).

4.7 Parallelitás tesztelés

A minták mért abszorbanciája (OD), a relatív koncentráció függvényében ábrázolva a kalibrációs görbéhez hasonló telítési görbét eredményezett, melyekre 4 paraméteres logaritmikus görbét illesztettünk. Két; tipikusan alacsony és két; tipikusan magas titerű minta hígítási görbéjét linearizáltuk a hígítás és a koncentráció természetes alapú logaritmusát véve. Lineáris illesztést végeztünk -1 meredekséggel (korábbi vizsgálatokból meghatározva), minden adatsor esetében. Az R^2 értékek 1-hez közelítettek (0.91-0.99), ami azt sugallja, hogy az analit (szérum antitestek) és az antigén kötődése összemérhető mérhető a standardéval. A magasabb titerű minták esetében jobb lineáris illeszkedés volt megfigyelhető, mivel a spektrofotometriás módszer jel-zaj viszonya jobb a magasabb mérési tartományban (14).

4.8 Tesztek közötti egyezés

A már leírt összeméréseken kívül (melyeket a telítés tisztaságnak igazolására is használtunk) a kereskedelmi forgalomban kapható kitekkel való összehasonlíthatóságot is vizsgáltuk. A lemezek közötti Cohen-kappa " κ " statisztika "jelentős" és "majdnem tökéletes" egyezést mutatott; $0,64 \leq \kappa \leq 0,92$ (15).

4.9 Az immuno-esszé jellemzői: költség, egyszerűség és időtakarékoság

A saját "három az egyben" MMR ELISA tesztünk fontos jellemzője a megfizethetőség; az ára csupán töredéke a kereskedelmi forgalomban kapható tesztek árának (15) . Egy másik fontos jellemzője a rövid kivitelezési idő; a kereskedelmi forgalomban kapható tesztek ~ 1,5/2,5 órás időkeretéhez képest a mi tesztünk 1 órán belül elvégezhető.

5 EREDMÉNYEK II – SZERO-EPIDEMIOLOGIA

5.1 Védőoltások történeti idővonala

A magyarországi kanyaró/MMR-oltásrendben bekövetkezett változásokat, fontosabb eseményeket és járványokat egy idővonalra vetítettük (8,17,18), hogy a szero-epidemiológiai adatokat ezeknek megfelelően tudjuk értékelni. Az adatokat összegyűjtöttük és elemeztük, így feltérképeztük a változásokat, a hiányosságokat és a járványok lehetséges kiváltó okait a magyar kanyaró/MMR oltási történelem során. Ezt a reprezentatív idővonalat használva (8,11) nyilvánvalóvá vált, hogy a nagy járványokat (1980-81 és 1988-89) magas életkor-specifikus fertőződés jellemezte, 93%-99%-os átoltottság mellett.

5.2 A legmagasabb szeronegativitási aránnyal rendelkező korcsoportok meghatározása

A megfelelő nyájimmunitási küszöbértékeket (HIT) figyelembe véve (HIT kanyaró = 92-95%, HIT mumpsz = 75-86%, HIT rubeola = 83-86), a kanyaró elleni IgG szeropozitivitási arányok nem bizonyultak megfelelőnek a lakosság egyes csoportjaiban. A legalacsonyabb szeropozitivitási arányt (N összes kanyaró = 3523 szérumminta) az "1978 és 1987 között oltottak" (~80%-os szeropozitivitás) és az "1969-77 között oltottak" (~90%-os szeropozitivitás) csoportjaiban mutattuk ki. Az oltási időszak-specifikus szeronegativitási konfidenciaintervallumok elemzése során az "1978 és 1987 között oltottak" csoportja szignifikáns különbséget mutatott az "1969-1977 és 1988-1990 között oltottak" jelölésű csoportoktól ($p = 0.00004$, illetve $p = 0.0015$).

Rubeola (N = 1736 szérumminta) esetén a legkevésbé védett csoportokat 1969-1977 (~85%-os szeropozitivitás) és 1988-1990 (~85%-os szeropozitivitás) során oltották be. Szignifikáns különbség volt megfigyelhető az 1969 előtt született (nem oltott) és az 1969-1977-ben ($p = 0.00008$), valamint az 1988-1990 és az 1991-1995 közötti ($p = 0.009$) csoportok között. A kanyaró, mumpsz és rubeola kumulatív eredmények esetében a szeropozitivitási arány 89,97%, 91.60% és 92.58% volt. Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy a kanyaró esetében az IgG-szintek

klaszter-specifikus elégtelensége miatt az összesített szeropozitivitási arány (kanyaró = 89.97%) sem érte el a nyájimmunitás küszöbértékét (HIT kanyaró = 92-95%). Mumpsz és rubeola esetében a nyáj-immunitás – humorális antitestek tekintetében – elérésre került (7).

6 EREDMÉNYEK III - LEHETSÉGES KAPCSOLAT A TERMÉSZETES (AUTO)ANTITESTEK ÉS A VAKCINA- VAGY FERTŐZÉS- INDUKÁLT ANTITESTEK KÖZÖTT

6.1 Vakcina- (vagy fertőzés-) indukálta kanyaróellenes IgG szeropozitivitási arányok szisztémás autoimmun betegségekben

A kanyaróellenes IgG-szinteket megmértük a szisztémás autoimmun betegektől vett összes mintában (n totál =374), majd kiértékeljük a szeronegativitási arányokat. Amint azt az epidemiológiai irodalomban már leírták, valamint összhangban a korábban publikált eredményeinkkel (8,11,14,15,17), a kanyaró szeronegativitási arányok szignifikáns korrelációt mutattak az életkorral ($p < 0.001$ korrelációs együttható; 0.323), ami általános jelenség, nem kifejezetten az autoimmunitáshoz köthető. A szeronegativitási arányokat tekintve; a korábbi részletes populáció-szintű "egészséges" kanyaróellenes-antitest eredmények (IgG) (10.03%-os szeronegativitás) és a jelenlegi autoimmun betegség-specifikus mintasokaság ugyanezen eredménye között (8.82%-os szeronegativitás) nem találtunk érdemi különbséget.

6.2 Természetes autoantitestek és a vakcina- vagy fertőzés- indukálta ellenanyagszintek összehasonlítása

Korábbi eredmények tanúsága szerint a mitokondriális belső membrán enzim, a citrát-szintáz és a topo I F4 -elleni természetes autoantitestek (IgG/M) kimutathatók mind egészséges egyének, mind pedig SSc-ben, SLE-ben és más autoimmun reumás betegségekben szenvedő betegek szérumában (19). A "*szisztémás autoimmun betegségek*" mintacsoport összességének (n=374) elemzésekor ugyanaz a tendencia volt megfigyelhető, mint külön-külön, a három kiemelt betegségcsoport (n SSc=157, n SLE = 92, n RA = 73, [n ,egyéb' = 52])

esetében. A "szisztémás autoimmun betegségek" összesített mintacsoportját figyelembe véve szignifikánsan magasabb citrát-szintáz-ellenes IgG-titerek voltak kimutathatók az anti-kanyaró IgG szeropozitív betegcsoportban ($p = 0.011$) (21).

A kanyaró vakcina (vagy vírus) által kiváltott kanyaróellenes IgG, és a természetes antitest titerek (anti-CS IgG) közötti összefüggést elemezve az egyes autoimmun betegségekben (RA, SLE és SSc) is a fent leírt tendencia volt megfigyelhető; mindhárom csoportban a kanyaróellenes IgG szeropozitív minták szignifikánsan magasabb anti-CS IgG titereket mutattak ($p = 0.035$, $p = 0.041$ és $p = 0.039$ RA, SLE és SSc esetében, sorrendben). Hasonló, de statisztikailag nem szignifikáns tendencia volt megfigyelhető az anti-F4 IgG természetes autoantitestek esetében is (21).

6.3 Kapcsolat az IgG izotípusú természetes antitestek és az anti-dsDNS IgG szintek között SLE-s betegek esetében

Az autoimmun betegség-specifikus patológiás autoantitestek és az IgG izotípusú természetes autoantitestek közötti kapcsolat vizsgálatához az anti-dsDNS IgG mérést végeztünk, mivel az anti-dsDNS IgG az SLE-ben specifikus betegségmarker. Azokban az SLE-s betegmintákban, amelyek pozitívnak bizonyultak ezen betegség-specifikus markerre, szignifikánsan magasabb anti-F4 IgG ($p = 0.001$) és anti-CS IgG ($p < 0.001$) természetes antitest szinteket találtunk. A korreláció szintén szignifikánsnak bizonyult az anti-dsDNS IgG szintek és az IgG izotípusú természetes autoantitestek között (p / korrelációs együttható: $0.006 / 0.321$ és $0.000 / 0.510$ anti-F4 IgG-re és anti-CS IgG-re vonatkozóan, sorrendben) (21).

6.4 Anti-dsDNS IgM és a természetes IgM autoantitestek kapcsolata SLE-ben

Számos szakirodalom leírja az anti-dsDNS IgM antitestek védő szerepét SLE-ben (lupus nephritisben) (21–23). Ez alapján összehasonlítottuk az anti-dsDNA IgM szinteket a természetes autoantitest titerekkel SLE-s betegmintákban. Megállapítottuk, hogy az anti-dsDNS IgM pozitív SLE betegmintákban szignifikánsan magasabb anti-F4 IgM és anti-CS IgM nAAb szintek voltak kimutathatók ($p = 0.002$, illetve 0.016 , sorrendben). Az anti-dsDNA IgM titerek és

a természetes autoantitest szintek közötti korreláció ugyancsak szignifikánsnak bizonyult (p/korrelációs együttható: 0.002/0.344 és 0.018 / 0.252 az anti-F4 IgM és az anti-CS IgM esetében) (20).

7 KÖVETKEZTETÉS

Kidolgoztunk egy nagy teljesítményű, időtakarékos, költséghatékony, nemzetközi standardokra épülő immunszerológiai vizsgálatot a kanyaró-, mumpsz- és rubeolaellenes IgG antitestek egyidejű kimutatására humán szérumokban. Ezt a tesztet - számos kereskedelmi forgalomban kapható immunszerológiai készlettől eltérően - kifejezetten a háttér és az interferencia maximális eltávolítására optimalizáltuk, hogy lehetővé váljon a szuboptimális antitest titerek megbízható detektálása. Ez a "három az egyben" teszt ugyanazt a reagens töltetet használja, egységes, rövid inkubációs időekkel és azonos módon előkezelt mintákkal, lehetővé téve így a lemezenként 24 minta háromparaméteres szűrését egy órán belül, manuális vagy automatizált rendszerben. Nagy teljesítményű automatizált beállítás esetén a három antigéntípus külön történő tesztelése is megvalósítható, lehetővé téve így 80 minta mérését futásonként.

A zero-epidemiológiai felmérések fontosságát alátámasztják a közelmúltban, több országban is előfordult kanyaró, mumpsz és rubeola fertőzések (24–32). A vakcina hatékonyságának ellenőrzése különösen fontos napjainkban, amikor a COVID-19 világjárvány káros hatásai tovább gyengítik a szomszédos országok némelyikében egyébként is kétes hatékonyságú immunizálási gyakorlatot. A kanyaró elleni oltási kampányok a jelenlegi pandémia következményeként történt felfüggesztése kedvezhet az behurcolásból eredő, kisebb kanyaró járványok előfordulásának az erre fogékony csoportokban (4–6,33).

Szérummintákat elemeztünk (N összes kanyaró = 3919 kanyaró, N mumpsz = 2132 mumpsz és N rubeola = 2132). A nyájimmunitási küszöbértékeket figyelembe véve, a korai vakcinálási időszak egyes csoportjaiban szuboptimális kanyaróellenes szeropozitivitási arányokat találtunk ($\approx 80\%$ a megfelelő

kanyaróellenes IgG antitest szintű minták aránya az "1978 és 1987" között vakcinázott egyének körében). Ez a megállapítás - összhangban a közelmúltban megjelent publikációval (10) és a korábbi szakirodalmi adatokkal (11)- arra utal, hogy a magyar lakosság körében is léteznek életkor-specifikus immunizációs hiányosságok. A mumpsz és a rubeola esetében adataink kielégítő immunitási szinteket mutatnak. Szeretnénk hangsúlyozni, hogy ma hazánkban, köszönhetően a biztonságos és modern trivalens vakcinákkal történő kötelező oltásoknak, az MMR vakcina átoltottsága ideális. A populációs szintű humorális immunitás (IgG) terén feltárt hiányosságok tehát kifejezetten a korai vakcinálási időszak rovására írhatók, nem tekinthetők a jelenlegi immunizálási gyakorlathoz fűződő általános jelenségnek (7,14,15).

Természetes autoantitestek tekintetében, eredményeink - amelyeket irodalmi adatok is alátámasztanak (38-40) - arra utalnak, hogy a természetes antitest-készlet, amelyről korábban azt gondolták, hogy az idők során változatlan, valójában képes bizonyos fokú dinamikus adaptációra, ami azt is jelenti, hogy nemcsak a saját, hanem az idegen antigének evolúciósan konzervált epitópjait is felismeri (36,37). Ma azt feltételezik, hogy a természetes autoantitest-repertoár eredendően a gazdaszervezet mikrobióta életközösségéhez kapcsolódik (16,38). Ez megmagyarázhatja, hogyan lehetséges, hogy a vakcinálás – mely a modern orvostudomány egyik fő pillére - nemcsak a memória B-sejtek és a betegséget kiváltó kórokozókkal szembeni immunitást biztosító antitestek kialakulását idézi elő, de emellett hatást gyakorol a természetes antitest-repertoárra is (16,39). A vakcinálás nem várt hozadéka; a természetes ellenanyag-hálózatok bővülése, szintén leírásra került (16). Méréseink azt mutatják, hogy szignifikáns pozitív kapcsolat van a vakcinával (vagy kórokozóval) kiváltott IgG izotípusok és a természetes ellenanyagszintek között, ami az iménti gondolatmenetet támasztja alá.

Természetes autoantitestek terén a szakirodalomban még mindig sok paradox eredményt tárgyal. Ezek, legalábbis részben, a sokféle kutatási megközelítéssel

magyarázhatók, amelyek mindegyike ráadásul más-más kutatási célpontra fókuszál. A vakcinák hosszútávú hatékonyságának nyomon követése - jól bevált, nagy átoltottsággal rendelkező vakcinák, mint kutatási célpontok felhasználásával - eszközként szolgálhat ezen ellentmondások feloldására. Gyakorlati megközelítésből; a vakcina (vagy kórokozó) által kiváltott "adaptív" IgG-szintek és a természetes autoantitest titerek immunszerezológiai alapú összehasonlításával talán választ adhatunk a természetes humán IgG-antitest-repertoárral kapcsolatos, még vitatott kérdésekre (pl. a saját antigénekkal szembeni reaktivitás élethosszig tartó stabilitása, szemben az idegen antigénekkal szembeni reaktivitás életkorfüggő diverzifikációjával (40)).

A dogma, miszerint a nagy affinitású IgG-válasz az immunizáció fő célja, és az alacsony affinitású antitestek kialakulása kerülendő, nagyban hozzájárult ahhoz, hogy a természetes autoantitestek vakcinálásban betöltött szerepéről ma vajmi kevés információ áll rendelkezésre (37). Nemrégiben azonban felmerült, hogy a természetes autoantitestek potenciális szűrési célpontként szolgálhatnak az antigén által kiváltott immunválasz erősségének előrejelzésére (41).

8 ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEGZÉSE

1. Kidolgoztunk egy nagy teljesítményű, időtakarékos, költséghatékony és standardizált "hármás" immunszerológiai tesztet, egyidejűleg a kanyaró-, mumpsz- és rubeola- ellenes IgG antitest titerek kimutatására, humán szérumokban. Mivel tesztünket a szuboptimális antitest szintek kiszűrésére állítottuk be, így jól alkalmazható a fogékony egyének kiszűrésére, valamint az immunológiai védelem potenciális hiányosságainak felderítésére.
2. A "hármás" vagy "három az egyben" immuno-esszé egységes reagens töltetet használ, szintén egységes, rövid inkubációs időekkel és azonos módon előkészített mintákkal, lehetővé téve így a lemezenkénti 24 minta háromparaméteres szűrését egy órán belül, akár kézi, vagy automatizált rendszerben.
3. Saját fejlesztésű tesztünk segítségével (melyet a kereskedelmi forgalomban jól bevált kitekkel validáltunk) specifikálni tudtuk azon potenciálisan fogékony korcsoportokat, akik a kanyaró elleni védőoltást a vakcinálási időszak kezdetén kapták meg (1969-77 és 1979-87 között oltottak).
4. Az általunk optimalizált módszernek időközben potenciális másodlagos haszna is lett; ez háttérzaj-csökkentett és jel-zaj arány javított ELISA rendszer egy újabb teszt alapjául is szolgálhat, mely információt adhatna a COVID-19 vakcina hatékonyságáról a szuboptimális antitest titerű, valamint a nem reagáló vakcinált egyének kiszűrése által.
5. Kimutattuk - a kanyaró vakcina által indukált immunológiai memóriát használva eszközként -, hogy szignifikáns pozitív kapcsolat van a vakcinával (vagy kórokozóval) kiváltott IgG izotípusú ellenanyagszintek és a természetes ellenanyagszintek között. Ez funkcionális bizonyítékául szolgálhat azon feltételezésnek, miszerint az IgG izotípusú természetes eredetű antitesteknek van adaptív képességük.

6. Kvantitatív, számszerű (mérhető ellenanyagszint) bizonyítékot találtunk arra, hogy a természetes ellenanyag készlet, amelyről azt hittük, hogy az idő múlásától függetlenül állandó, valójában bizonyos fokú dinamikus alkalmazkodásra képes.
7. Saját tesztünk – oltás utáni, követéses vizsgálatokban alkalmazva - az autoimmun betegségekben szenvedő betegeknél a memória B-sejtek potenciálisan károsodott működésének funkcionális tesztjeként szolgálhat.
8. Egy könnyen kivitelezhető, olcsó immun-szerológiai módszert találtunk a természetes humán IgG antitest-repertoárral kapcsolatos, eddig vitatott kérdések megválaszolására (pl. a saját antigénekkal szembeni reaktivitás élethosszig tartó stabilitása, szemben az idegen antigénekkal szembeni reaktivitás életkorfüggő váltakozásával).

IRODALOMJEGYZÉK

1. Torre G La, Saulle R, Unim B, Meggiolaro A, Barbato A, Mannocci A, et al. The effectiveness of measles-mumps-rubella (MMR) vaccination in the prevention of pediatric hospitalizations for targeted and untargeted infections: A retrospective cohort study. *Hum Vaccin Immunother.* 2017 ;13(8):1879.
2. Rosian-Schikuta I, Fröschl B, Habl C, Stürzlinger H. The Measels-Mumps-Rubella Vaccination from a health political and economical point of view. *GMS Health Technol Assess.* 2007; 3: Doc12.
3. Plans-Rubió P. Evaluation of the establishment of herd immunity in the population by means of serological surveys and vaccination coverage. *Hum Vaccin Immunother.* 2012;8(2):184–8.
4. COVID-19's Impact on Measles Vaccination Coverage. Available from: <https://www.cdc.gov/globalhealth/measles/news/covid-impact-on-measles-vaccination.html>
5. Durrheim DN, Andrus JK, Tabassum S, Bashour H, Githanga D, Pfaff G. A dangerous measles future looms beyond the COVID-19 pandemic. *Nat Med.* Available from: <http://www.nature.com/articles/s41591-021-01237-5>
6. Suspension of vaccination due to COVID-19 increases the risk of infectious diseases outbreaks - UNICEF and WHO. Available from: <https://www.unicef.org/ukraine/en/press-releases/suspension-vaccination-due-covid-19-increases-risk-infectious-diseases-outbreaks>
7. Böröcz K, Markovics Á, Zsuzsanna C, Joseph N, Timea B, Németh P. Imported infections versus herd immunity gaps ; a didactic demonstration of compartment models through the example of a minor measles outbreak in. *Southeast Eur Med J.* 2021;5(1):1–16.
8. Agócs MM, Markowitz LE, Straub I, Dömök I. The 1988-1989 measles epidemic in Hungary: assessment of vaccine failure. *Int J Epidemiol.* 1992;21(5):1007–13.
9. Lengyel G, Ánosi N, Marossy A, Mátyus M, Bosnyákovits T, Orosz L. Az európai és a magyarországi kanyaróhelyzet összefoglalása és tanulságai. *Orv Hetil.* 2019;160(20):767–73.
10. Lengyel G, Marossy A, Ánosi N, Farkas SL, Kele B, Nemes-Nikodém É, et al. Screening of more than 2000 Hungarian healthcare workers' anti-measles antibody level: results and possible population-level consequences. *Epidemiol Infect.* 2019;147:e7.
11. International Notes Measles -- Hungary. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001472.htm>
12. Molnár Z, Szomor K, Huszti G, Ozsvárné Csepregi É. Local mumps outbreak in Hungary, 2007. *Wkly releases.* 2007 Mar 29;12(13):3167.

13. Is AT, He C, Dr NAN, Ws E, Kafatos G, Nardone A, et al. Standardization of measles, mumps and rubella assays to enable comparisons of seroprevalence data across 21 European countries and Australia. *Epidemiol Infect.* 2007;135:787–97.
14. Böröcz K, Csizmadia Z, Markovics Á, Mészáros V, Farkas K, Telek V, et al. Development of a robust and standardized immunoserological assay for detection of anti-measles IgG antibodies in human sera. *J Immunol Methods.* 2019 Jan 1;464:1–8.
15. Böröcz K, Csizmadia Z, Markovics, Farkas N, Najbauer J, Berki T, et al. Application of a fast and cost-effective “three-in-one” MMR ELISA as a tool for surveying anti-MMR humoral immunity: The Hungarian experience. *Epidemiol Infect.* 2020; 148: e17.
16. Beinart D, Ren D, Pi C, Poulton S, Holzknicht ZE, Swanson C, et al. Immunization enhances the natural antibody repertoire. *EXCLI J.* 2017;16:1018–30.
17. MMWR Weekly. MMWR Publications | MMWR. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/publications/index.html>
18. Hungary V. Vacsatc - Oltásbiztonság | Available from: <http://www.oltasbiztonsag.hu/>
19. Simon D, Czömpöly T, Berki T, Minier T, Peti A, Tóth E, et al. Naturally occurring and disease-associated auto-antibodies against topoisomerase I: A fine epitope mapping study in systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Int Immunol.* 2009;21(4):415–22.
20. Böröcz K, Simon D, Erdő-Bonyár S, Kovács KT, Tuba É, Czirják L, et al. Relationship between natural and infection-induced antibodies in systemic autoimmune diseases (SAD): SLE, SSc and RA. *Clin Exp Immunol.* 2021;203(1):32-40
21. Jiang C, Zhao ML, Searce RM, Diaz M. Activation-induced deaminase-deficient mrl/lpr mice secrete high levels of protective antibodies against lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 2011;63(4):1086–96.
22. Ehrenstein MR, Notley CA. The importance of natural IgM: Scavenger, protector and regulator. Vol. 10, *Nature Reviews Immunology.* Nature Publishing Group; 2010. p. 778–86.
23. Witte T. IgM antibodies against dsDNA in SLE. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008 Jun 21;34(3):345–7.
24. Ujii M. Rubella Resurgence in Japan 2018–2019. *J Travel Med.* 2019;26(6).
25. WHO | New measles surveillance data from WHO. WHO. 2019; Available from: <https://www.who.int/immunization/newsroom/new-measles-data-august-2019/en/>
26. Wadman M. Measles epidemic in Ukraine drove troubling European year. *Science*

- (80-). 2019;363(6428):677–8.
27. V Debate. Measles, war, and health-care reforms in Ukraine. *Lancet*. 2018;392(10149):711.
 28. Ukraine: Measles Outbreak - Jan 2019 | ReliefWeb [Internet]. [cited 2019 Aug 22]. Available from: <https://reliefweb.int/disaster/ep-2019-000017-ukr>
 29. Lambert N, Strebel P, Orenstein W, Icenogle J, Poland GA. Rubella. *Lancet* (London, England). 2015;385(9984):2297–307. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25576992>
 30. Lewnard JA, Grad YH. Vaccine waning and mumps re-emergence in the United States. *Sci Transl Med*. 2018 Mar 21;10(433):eaao5945.
 31. Hviid A, Rubin S, Mühlemann K. Mumps. *Lancet*. 2008 Mar 15;371(9616):932–44.
 32. Balbi AM, Van Sant AA, Bean EW, Jacoby JL. Mumps: Resurgence of a once-dormant disease. *J Am Acad Physician Assist*. 2018;31(5):19–22.
 33. WHO Western Pacific Region. WHO Western Pacific Region: Countries and areas. *Measles-Rubella Bull*. 2021;15(1):1–10.
 34. Czömpöly T, Olasz K, Nyárady Z, Simon D, Bovári J, Németh P. Detailed analyses of antibodies recognizing mitochondrial antigens suggest similar or identical mechanism for production of natural antibodies and natural autoantibodies. *Autoimmun Rev*. 2008;7(6):463–7.
 35. Czömpöly T, Olasz K, Simon D, Nyárady Z, Pálincás L, Czirják L, et al. A possible new bridge between innate and adaptive immunity: Are the anti-mitochondrial citrate synthase autoantibodies components of the natural antibody network? *Mol Immunol*. 2006;43(11):1761–8.
 36. Panda S, Zhang J, Tan NS, Ho B, Ding JL. Natural IgG antibodies provide innate protection against ficolin-opsonized bacteria. *EMBO J*. 2013 Nov 13;32(22):2905–19.
 37. Maddur MS, Lacroix-Desmazes S, Dimitrov JD, Kazatchkine MD, Bayry J, Kaveri S V. Natural Antibodies: from First-Line Defense Against Pathogens to Perpetual Immune Homeostasis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2020;58(2):213-228
 38. Haghighi HR, Gong J, Gyles CL, Hayes MA, Zhou H, Sanei B, et al. Probiotics stimulate production of natural antibodies in chickens. *Clin Vaccine Immunol*. 2006;13(9):975–80.
 39. Bachi ALL, Suguri VM, Ramos LR, Mariano M, Vaisberg M, Lopes JD. Increased production of autoantibodies and specific antibodies in response to influenza virus vaccination in physically active older individuals. *Results Immunol*. 2013;3:10–6.
 40. Lacroix-Desmazes S, Mouthon L, Coutinho A, Kazatchkine MD. Analysis of the

natural human IgG antibody repertoire: life-long stability of reactivities towards self antigens contrasts with age-dependent diversification of reactivities against bacterial antigens. *Eur J Immunol.* 1995;25(9):2598–604.

41. Kohler H, Bayry J, Nicoletti A, Kaveri S V. Natural autoantibodies as tools to predict the outcome of immune response? Vol. 58, *Scandinavian Journal of Immunology.* 2003. p. 285–9.

9 KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Böröcz K, Csizmadia Z, Markovics Á, Mészáros V, Farkas K, Telek V, Varga V, Maloba G O, Bodó K, Najbauer J, Berki T, Németh P. Development of a robust and standardized immunoserological assay for detection of anti-measles IgG antibodies in human sera. *J Immunol Methods*. 2019 Jan 1; 464:1–8.

Böröcz K, Csizmadia Z, Markovics, Farkas N, Najbauer J, Berki T, Németh P. Application of a fast and cost-effective “three-in-one” MMR ELISA as a tool for surveying anti-MMR humoral immunity: The Hungarian experience. *Epidemiol Infect*. 2020; 148: 1-12.

Böröcz K, Simon D, Erdő-Bonyár S, Kovács KT, Tuba É, Czirják L, Németh P., Berki T. Relationship between natural and infection-induced antibodies in systemic autoimmune diseases (SAD): SLE, SSc and RA. *Clin Exp Immunol*. 2020; 203/1.: 32-40.

Böröcz K, Markovics Á, Zsuzsanna C, Najbauer J, Berki T, Németh P. Imported infections versus herd immunity gaps; a didactic demonstration of compartment models through the example of a minor measles outbreak in. *Southeast Eur Med J*. 2021;5(1):1–16.

10 EGYÉB PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Bodo, K; Boros, A ; Rumpler, E ; Molnar, L ; Borocz, K ; Nemeth, P ; Engelmann, P.
Identification of novel lumbricin homologues in Eisenia andrei earthworms.
DEVELOPMENTAL AND COMPARATIVE IMMUNOLOGY 90 pp. 41-46. , 6 p. (2019)

Hayden, Z ; Böröcz, K ; Csizmadia, Z ; Balogh, P ; Kellermayer, Z ; Bodó, K ; Najbauer, J ;
Berki, T-. Single-center study of autoimmune encephalitis-related autoantibody testing in
Hungary. BRAIN AND BEHAVIOR 9 : 12 Paper: e01454 , 7 p. (2019)

Hayden, Z; Böröcz, K ; Csizmadia, Z ; Kellermayer, Z ; Balogh, P ; Berki, T. A paraneopláziás
neurológiai szindrómák laboratóriumi diagnosztikája és immunológiai vonatkozásai.
MAGYAR ONKOLÓGIA 63: 3 pp. 261-267. , 7 p. (2019)

Molnar, T; Borocz, K; Berki, T ; Szapary, L ; Szolics, A ; Janszky, J ; Illes, Z ; Csecsei, P.
Subacute Elevation of Plasma Level of Caspase-Cleaved Cytokeratin-18 is Associated with
Hemorrhagic Transformation and Functional Outcome in Ischemic Stroke. JOURNAL OF
STROKE AND CEREBROVASCULAR DISEASES 28 : 3 pp. 719-727., 9 p. (2019)

Berki, T; Hayden, Z ; Böröcz, K ; Csizmadia, Z ; Kellermayer, Z ; Balogh, P. Immunmediált
kórképek diagnosztikája : laboratóriumi szakemberek és a klinikusok együttműködése.
NEUROLÓGIAI PRAXIS 1 : 4 pp. 14-15. , 2 p. (2018)

Borocz, K; Hayden, Z; Meszaros, V ; Csizmadia, Z ; Farkas, K ; Kellermayer, Z ; Balogh, P ;
Nagy, F ; Berki, T. Az autoimmun encephalitisek laboratóriumi vizsgálati lehetőségei.
ORVOSI HETILAP 159 : 3 pp. 107-112. , 6 p. (2018)

11 TUDOMÁNYOS TEVÉKENYSÉG

ESEMÉNY	DÁTUM	HELY	POSZTER/ ELŐADÁS	CÍM
46. Membrán- Transzport Konferencia	2016.május 17-20.	Sümeg	Poszter és előadás	Diagnostic value of anti-receptor autoantibodies in immune-mediated neurological diseases <i>Böröcz K, Mészáros V, Kellermayer Z, Berki T</i>
45. MIT Éves Vándorgyűlés	2016. október 19- 21.	Velence	Poszter	Large-scale immunoserological efficacy study of measles vaccination <i>Böröcz K, Mészáros V, Farkas K, Csizmadia Z, Katz Z, Németh P</i>
Pécsi Tudományegyetem – Immunológiai Kiválósági Központ - Szeminárium sorozat	2017. május 11	Pécsi Tudomány- egyetem	Előadás	Obstacles and successes during the development of an automated ELISA test, used for the detection of anti-measles antibody detection <i>Böröcz K – Németh P</i>
47. Membrán- Transzport Konferencia	2017. május 16-19.	Sümeg	Poszter	Modeling the conformation sensitivity of antigen-antibody binding on artificial surfaces <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Mészáros V, Berki T, Markovics Á, Németh P</i>
46. MIT Éves Vándorgyűlés	2017. október 18- 20.	Velence	Előadás	Measles vaccine efficacy study- identifying potentially susceptible cohorts in Hungary <i>Böröcz K, Ouma M G, Csizmadia Z, Farkas K, Németh P</i>
5th Autoimmunity Seminar – Shedding a new light on autoimmunity	2017. november 13- 15.	Barcelona	Előadás	Comparison of autoimmune routine diagnostic laboratory elisas with their corresponding chemiluminescent assays - a study based on our endeavors towards assay modernization in the light of quality control tendencies <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Berki T</i>
'Fiatal Biotechnológusok Országó Szövetsége' FIBOK Konferencia	2018. március 28- 29.	ELTE, Budapest	Poszter	Opening a new door to cost-effective largescale vaccine effectiveness studies <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Mészáros V, Berki T, Markovics Á, Németh P</i>
Nemzetközi Immunizációs Hét- Kerekasztal Konferencia	2018. április 28-30.	Pécsi Tudomány- egyetem	Előadás	New challenges: monitoring the long-term efficacy of vaccines <i>Böröcz K, Németh P</i>

MIT-MLDT Kongresszus, 2018	2018. August 30 – szeptember 1.	Pécsi Tudomány- egyetem	Poszter	Development of a combined high throughput and cost-effective indirect ELISA for MMR vaccine efficacy screening <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Varga V, Telek V, Berki T, Németh P</i> Comparison of chemiluminescence and conventional ELISA techniques in autoantibody detection <i>Csizmadia Z, Böröcz K, Telek V, Varga V, Berki T</i>
5th Európai Immunológiai Kongresszus (ECI)	2018. Szeptember 2-5.	Amszterdam	Poszter	Development of a robust and standardized immunoserological assay for detection of anti-measles IgG antibodies in human serum <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Mészáros V, Markovics Á, Farkas K, Telek V, Varga V, Ouma M G, Bodó K, Najbauer J, Berki T B, Németh P</i>
MIT MLDT Szakmai Továbbképzés	2018. október 3.	Budapest	Előadás	Új lehetőségek az autoantitestek kimutatásában <i>Berki T, Böröcz K</i>
Nemzetközi Immunizációs Hét- Kerekasztal Konferencia	2019. április 30.	Pécsi Tudomány- egyetem	Előadás	Monitoring of long term efficacy of the MMR vaccination in the Hungarian population <i>Böröcz K, Németh P</i>
1st Pécs-Osijek PhD Symposim	2019. május 10.	Pécsi Tudomány- egyetem	Előadás	Vaccination state of the Hungarian population <i>Böröcz K, Németh P</i>
49.Membrán- Transzport Konferencia	2019. május 14-17.	Sümeg	Poszter és előadás	A quick trivalent ELISA assay for the detection of MMR vaccine effectiveness, and for seronegativity screening <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Markovics Á, Farkas K, Najbauer J, Berki T B, Németh P</i>
WHO Consensus Meeting	2019. október 8.	Pécsi Tudomány- egyetem	Előadás	Conclusions of a measles/MMR serosurvey in the Hungarian population <i>Böröcz K, Németh P</i>
5th International Consensus on ANA pattern (ICAP) Workshop	2019.szeptember10- 1.	Drezda	Poszter	Comparison of commonly used dsDNA assay types in order to better support an accurate clinical diagnosis <i>Böröcz K, Csizmadia Z, Varga V, Berki T</i> Evaluation of three years of maternal infertility - related autoantibody test requests

				<i>Csizmadia Z, Böröcz K, Varga V, Balázs N, Berki T</i>
EWRR	2020. február 13.	Leuven	Poszter	Infection (or vaccine)-induced antibody and natural autoantibody levels may show association in systemic lupus erythematosus (SLE) patients <i>Böröcz K, Simon D, Erdő-Bonyár S, Csizmadia Z, Kovács A, Czirják L, Németh P, Berki T</i>
Health Innovation Cluster of Pécs (PEIK) Conference	2020. október 27.	Pécs, Hungary	Előadás	Vaccine Effectiveness Monitoring (early warning) <i>Böröcz K, Németh P</i>

12 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a következő személyeknek, akik segítettek ebben a kutatási projektben:

Témavezetőmnek: Prof Dr. Németh Péternek,

Programvezetőmnek, és Intézetünk Igazgatójának: Prof Dr. Berki Timeának,

Valamint kedves Kollégáimnak, különösen Dr. Najbauer Józsefnek és Dr. Simon Diánának, akik hasznos megjegyzéseikkel, építő kritikájukkal és értékes tanácsaikkal nagyban hozzájárultak a munkámhoz.

Szeretnék köszönetet mondani Dr. Rigó Zitának, Dr. Molnár Zsuzsannának és Dr. Kulcsár Andreának, akik hozzájárultak az interjúhoz és értékes szakmai tanácsokkal láttak el.

Nagyon hálás vagyok Allan Saul Professzornak és csapatának, akik a Novartis (ma GSK) Vaccines Institute for Global Health nevű kutatóintézetében (Sienában, Olaszországban) gyakornokként fogadtak.

Külön köszönetet szeretnék mondani az Immunológiai és Biotechnológiai Intézet Autoimmun Rutindiagnosztikai Laboratóriuma minden munkatársának, valamint az elmúlt 5 évben volt, és jelenlegi összes kollégámnak.

És végül, de nem utolsósorban, szeretném megköszönni a Családomnak a támogatást.