

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

Biológiai Doktori Iskola

**Dobrava-Belgrade hantavírusok gyakorisának felmérése
Apodemus rágcsálókban molekuláris biológiai és szerológiai
módszerek együttes alkalmazásával**

PhD értekezés tézisei

NÉMETH VIKTÓRIA

Témavezető:

Dr. Jakab Ferenc

egyetemi docens

PÉCS, 2013

BEVEZETÉS

A hantavírusok a *Bunyaviridae* családba tartozó, 80-120 nm átmérőjű, gömb alakú kórokozók, melyeket földrajzi elterjedésük alapján két nagy csoportra különíthetjük el. Egyik csoport az Euráziában és Afrikában található óvilági vagy Old World hantavírusok, melyek emberben a veseszindrómával járó hemorrhágiás lázat (HFRS) okozzák. Fő képviselője Ázsiában a Hantaan (HTNV), míg Európában a Dobrava-Belgrade (DOBV) és a Puumala (PUUV) vírusok. A másik nagy csoport a kardiopulmonáris szindrómát (HCPS) okozó újvilági vagy New World hantavírusok, melynek legjelentősebb tagja a Sin Nombre vírus (SNV).

A vírusok három szegmensből álló, negatív egyszálú, kb. 12 kilobázis hosszúságú genommal rendelkeznek. Az S szegmens (1,7-2,0 kb) a nukleokapszid proteint (NP), az M szegmens (3,6-3,7 kb) a glikoproteineket (G_N , G_C) és az L szegmens (6,5 kb) az endonukleáz, transzkriptáz, replikáz és RNS helikáz aktivitással rendelkező RNS függő RNS polimerázt kódolja. Az NP-k és az RNS szegmensek közösen alkotják a ribonukleoproteineket, ezeket veszi körül egy lipid kettősréteg, melybe a glikoproteinek ágyazódnak heterodimert alkotva. Fertőzött sejtekben az RNS függő RNS polimeráz csak a kapsziddal fedett virális RNS-t ismeri fel, azaz a kapszid jelenléte elengedhetetlen a transzkripció és a replikáció folyamataihoz. A glikoproteinek feladata egyrészt a célsejt receptoraihoz való kapcsolódás, másrészt a virion összeépülésének helyét jelölik ki a sejtben belül.

A hantavírusok fő terjesztői a *Rodentia* renden belül a *Muridae* családból a *Murinae* alcsalád, a *Cricetidae* családból az *Arvicolinae* és *Sigmodontinae* alcsalád képviselői. Az utóbbi évtizedben a *Soricomorpha* rendbe tartozó cickány-félék (*Soricidae*) és vakond-félék (*Talpidae*) családjának tagjaiban is sikerült kimutatni hantavírusokat. A legújabb felfedezést a denevérek (*Chiroptera* rend) terjesztette hantavírusok képezik. A vírus az állat testváladékainak (nyál, vizelet, széklet) vaporizációjával és harapással terjed a rágcsálók között. A kórokozót tünetmentesen akár életük végéig is üríthetik. Az emberi szervezetbe is hasonlóképpen jut be a kórokozó. A vírus számára az ember zsákutcát jelent, habár Argentínában az Andes vírus (ANDV) esetében már leírtak emberről emberre történő fertőzést.

Az óvilági hantavírusok a veséket érintő HFRS és nephropathia epidemica (NE) kórképet okozhatják. A betegség azonosítását nehezíti, hogy a kezdeti tünetek nem specifikusak, a fertőzés korai stádiumában a beteg influenza-szerű tüneteket mutat. A páciensek harmadánál jelentkeznek csak a specifikus szimptomák, a veseelégtelenség és a

hemorrhágiás manifesztációk. A súlyosabb megbetegedést okozó HFRS esetében a halálozási arány elérheti a 5-10%-ot is, míg az enyhébb lefolyású NE 0,1%-os halálozási aránnyal jár.

Európában a DOBV, PUUV, Saaremaa (SAAV), Tula (TULV) és Seoul vírus (SEOV) van jelen. Ezek közül a legelterjedtebb és a legtöbb humán fertőzést a PUUV okozza, köszönhetően annak, hogy hordozója, a vöröshátú erdeipocok (*Myodes glareolus*) Európa nagy részén megtalálható. A kontinens másik jelentősebb hantavírusa a lényegesen súlyosabb tüneteket okozó DOBV, amely három leszármazási vonallal rendelkezik a hordozó rágcsálófajtól függően: Európa-szerte a sárganyakú erdeieger (*Apodemus flavicollis*, Af) a természetes gazdája a vírusnak (DOBV-Af), Kelet-, és Közép-Európában a pirók erdeieger (*A. agrarius*, Aa; DOBV-Aa), míg a Kaukázus területén a kaukázusi erdeieger (*A. ponticus*, Ap) hordozza a kórokozót (DOBV-Ap). DOBV-Af okozta fertőzések Dél-Európában, különösen a Balkánon dominálnak. Oroszországban a DOBV-Aa fertőzés a jellemző. Évekkel ezelőtt kezdődött kutatók között a DOBV taxonómiáját érintő vita. Az Észtországhoz tartozó Saaremaa szigeten *A. agrarius* rágcsálóból mutattak ki egy DOBV-hez genetikailag nagyon hasonló kórokozót, a SAAV-t. Kezdetben ezt a vírust a DOBV egy genetikai variánsának tekintették. A későbbiekben a Nemzetközi Vírus Taxonómiai Bizottság (ICTV) a SAAV-t a hantavírusok külön szubtypusának nyilvánította. Kutatók egy része feltételezi azonban, hogy nem minden *A. agrarius* által terjesztett és Közép-Európában detektált vírus SAAV.

CÉLKITŰZÉSEK

1. DOBV rekombináns kapszid antigén előállítás *Escherichia coli* expressziós rendszer alkalmazásával,
2. új, rekombináns antigén alapú ELISA teszt kifejlesztése, ami a kutatási és diagnosztikai vizsgálatokhoz egyaránt alkalmazható,
3. a hazánkban, illetve a szomszédos Horvátország határ menti, északi területein cirkuláló, rágcsálók által terjesztett hantavírus törzsek előfordulásának, gyakoriságának felmérése,
4. új hantavírus törzsek keresése,
5. seroepidemiológiai vizsgálatok elvégzése az általunk előállított rekombináns antigén segítségével,
6. filogenetikai és molekuláris szekvencia analízissel a kimutatott vírustörzsek molekuláris szintű jellemzése, fontosabb leszármazási és/vagy rokonsági kapcsolatok felderítése.

ANYAGOK és MÓDSZEREK

Vizsgálati minták

Kutatásaink során a DOBV-t hordozó két rágcsálófajt, a sárganyakú erdeiegeret (*Apodemus flavicollis*, Af) és a pirók erdeiegeret (*Apodemus agrarius*, Aa) vizsgáltuk, melyeket öt dél-dunántúli (Pécs-Árpádtető, Gyékényes, Görcsöny, Gyód, Sármellék) és kettő horvátországi (Beli Manastir, Gola) területen fogtunk. Vizsgálataink alapját a csapdázások során természetesen elhullott rágcsálók képezték. Kísérleteinkben a rágcsálók tüdőszövetét és a belőle származó vért használtuk fel. Munkánkban ezen kívül felhasználtunk humán vérsavó mintákat, melyek kórházban ápolt betegektől származtak.

Molekuláris vizsgálatok, filogenetikai analízis

A vírus nukleinsav (RNS) tisztítása TRIzol® (Invitrogen) módszerrel történt a gyártó utasításai alapján, majd a reverz transzkripció (RT) az 5' oligonukleotidokkal történt. A molekuláris jellemzéshez az S szegmens kódoló régiójának amplifikálását Qiagen OneStep RT-PCR Kit segítségével végeztük el. A szekvenálandó szakaszok sokszorozásához nested-PCR módszert alkalmaztunk, ahol a kiindulási templát DNS-t, a OneStep RT-PCR-ből

kapott termékek szolgáltatották. A szekvenálást automata ABI Prism 310 DNS szekvenáló készülékkel végeztük.

A szekvenciák szerkesztését a GeneDoc v2.7, a nukleotid illesztéseket a ClustalX v2.0 programmal végeztük. A filogenetikai fát a MEGA v5.0 programmal, Maximum Likelihood módszer, General Time Reversible szubsztitúciós modell (invariábilis pozíciókkal és gamma eloszlással, GTR+I+G) segítségével rajzoltuk meg. A szimulációhoz használt ismétlések száma (bootstrap) 1000 volt. Az analízis pontosabb értékelhetősége érdekében szimulációs vizsgálatainkban egy külső csoportot (outgroup) is használtunk.

Fehérje-expressziós és szerológiai vizsgálatok

DOBV szerológiai vizsgálathoz rekombináns virális antigént állítottunk elő bakteriális expressziós rendszer segítségével. A fehérjét kódoló fragmentet pET28a+ vektorba klónoztuk. A transzformáláshoz *Escherichia coli* BL21 Rosetta DE3pLys kompetens sejteket használtunk. A rekombináns plazmidot tartalmazó BL21 Rosetta sejteket 37°C-on, folyamatos rázatás mellett (200 rpm) LB tápfolyadékban növesztettük 30 µg/ml kanamycin és 35 µg/ml chloramphenicol jelenlétében. A logaritmusos fázis (OD₆₀₀ 0,8-1,0) elérésekor a sejtek indukcióját 1,0 mM IPTG hozzáadásával indítottuk. Az indukció 15°C-on 20 órán keresztül történt, majd a sejteket üleptítettük. A zárványtesteket képző proteinek feltárása és tisztítása denaturáló körülmények között, kaotróp oldószerek felhasználásával zajlott. A tisztítást HIS Select[®] HF Nickel Affinity Gel oszloppal végeztük. Az egyes frakciókat SDS-poliakrilamid gélelektroforézis alkalmazásával választottuk el és Comassie blue segítségével tettük láthatóvá.

A virális nukleokapszid antigént saját fejlesztésű, állati és humán mintákra egyaránt optimalizált ELISA rendszerben alkalmaztuk, annak érdekében, hogy pontosabb képet kapjunk a DOBV gyakoriságáról a rágcsálókban. Az antigénnel Western blot vizsgálatokat is végeztünk a fehérje aktivitásának tesztelésére valamint eredményeink megerősítésére.

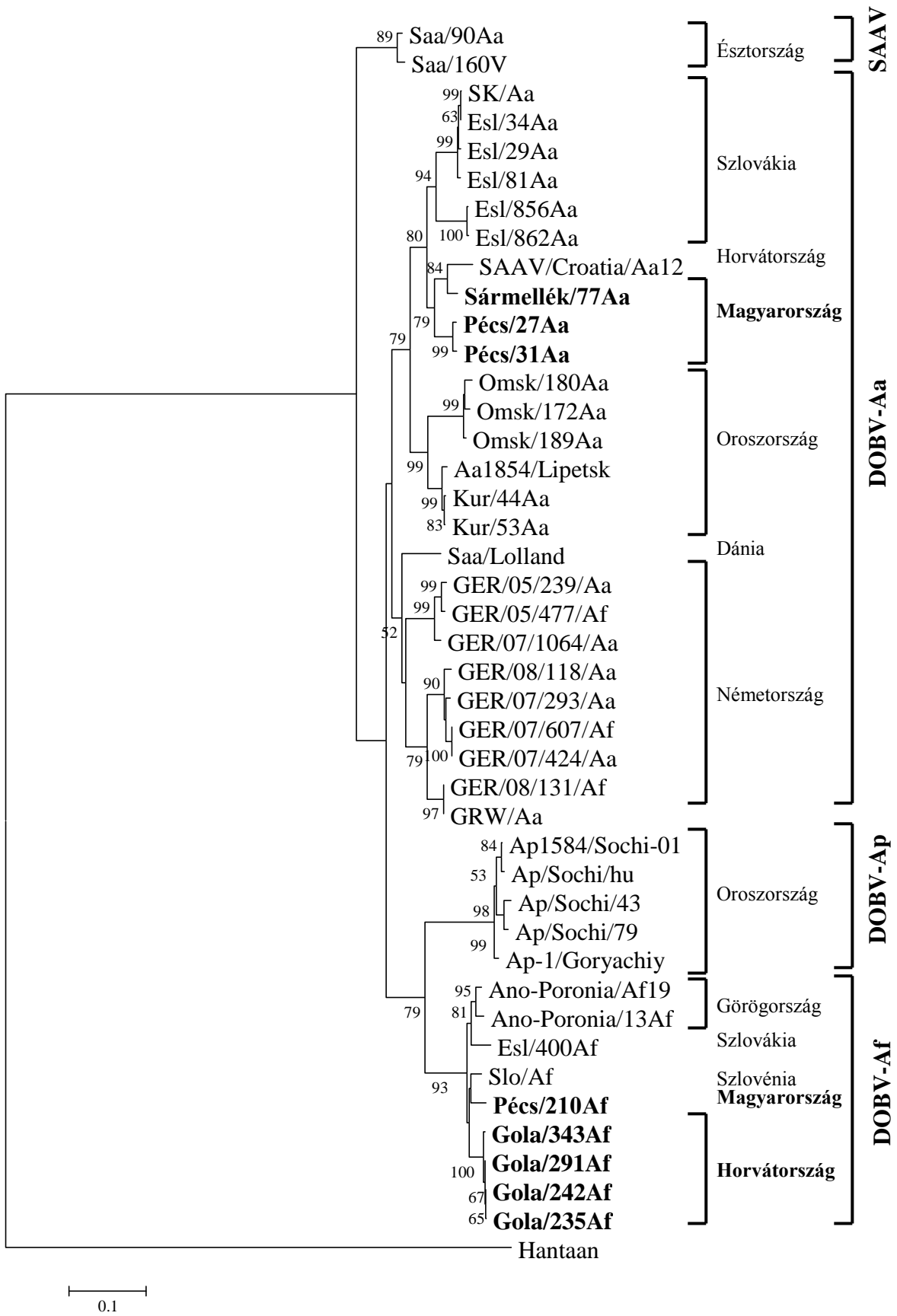
EREDMÉNYEK és MEGVITATÁSUK

Molekuláris vizsgálatok

Kutatócsoportunk 2009-ben indított kísérletsorozata a DOBV molekuláris vizsgálatára, genetikai variabilitásának feltérképezésére irányult. Jelen munkában bemutatott további molekuláris biológiai illetve immunológiai, epidemiológiai kísérletek is – előzetes eredményeink felhasználásával – a vírusok részletesebb molekuláris elemzésére, gyakoriságuk megállapítására irányultak. A kutatásunk alapját természetes úton elpusztult 125 *Apodemus* egyed képezte. Az előzetes kísérletekben a rágcsálók tüdőszövetéből vontuk ki a virális nukleinsavat. A fertőzés igazolása rRT-PCR (real time RT-PCR) módszerrel a nukleokapszid génre specifikus primerekkel történt, amelyek az S szegmens 433 bázispár hosszúságú szakaszát sokszorozták. A 125 mintából tíz esetben (8%) sikerült virális nukleinsavat kimutatnunk, melyből hét Af-ből (7/58, 12%), három Aa-ból (3/67, 4,5%) származott.

A későbbiekben a tíz pozitív mintából nyolc esetben tudtuk a teljes S szegmens ORF régióját (36-1325 nukleotid, 1290 bázispár) sokszorozni, amely a 429 aminosav hosszúságú nukleokapszid proteint kódolja. Az elemzésben a kimutatott törzsek szekvenciáit vetettük össze az NCBI GeneBank adatbázisában fellelhető összes Aa-ból és Af-ből kimutatott vírus komplett S szegmensének fehérjét kódoló szekvenciájával.

A filogenetikai analízisek eredményeiből megállapítható, hogy Közép-Európában legalább két, részben különböző genetikai állományú DOBV cirkulál. Az elemzés alapján elmondhatjuk, hogy az Aa-ból kimutatott új törzsek a DOBV-Aa, az Af-ből izolált vírusok a DOBV-Af csoporttal képeznek monofiletikus csoportot (1. ábra).



1. ábra. Rágcsálókból izolált DOBV S szegmens kódoló (1290 bp) régiójának nukleotid szekvenciáján alapuló maximum likelihood módszerrel készült filogenetikai elemzés.

Az Aa-ból kimutatott törzseink jelentős filogenetikai távolságra helyezkednek el a SAAV-tól, vagyis eredményeink megerősítik azokat a felvetéseket, melyek a DOBV taxonómiáját érintő vitában jelentkeztek. Plyusnin és munkatársai által 1997-ben első alkalommal izolált SAAV-t *A. agrarius* rágcsálóból mutatták ki Észtországból, Saaremaa szigeten. A későbbiekben Európa számos országában mutattak ki kórokozót Aa rágcsálóból, melyek genetikailag azonban jelentősen különböztek a SAAV-tól. Kutatók egy része szerint az Aa-ból kimutatott összes vírustörzset SAAV-ként kellene jegyezni, függetlenül attól, hogy azok akár jelentős filogenetikai távolságot mutatnak az analízisekben az észtországi szigeten talált vírussal szemben. A probléma feloldására Klempa és munkatársai 2012-es közleményükben javaslatot tettek a DOBV fajon belüli genotípusok megkülönböztetésére. Ennek értelmében a Dobrava-Belgrade fajon (species) belül, Dobrava, Saaremaa, Kurkino és Sochi genotípusok bevezetését szorgalmazzák, az első kimutatási/izolálási helytől függően.

Az elmúlt években megjelent tudományos közlemények egy jelentős részében a szerzők részleges adatokra alapozva, nem megfelelő hosszúságú szakasz elemzésével vontak le sokszor téves következtetéseket az általuk vizsgált vírustörzs leszármazási, rokonsági kapcsolatairól. Eredményeink rámutattak arra, hogy vírustaxonomiai hipotézisek megválaszolásához elengedhetetlen a megfelelő hosszúságú, variábilis génszakasz elemzése.

Rekombináns fehérjeexpresszió

Kutatásunk során olyan rekombináns DOBV nukleokapszidot állítottunk elő, mely nem tartalmazza az amino terminális első 49 aminosav részét (rNP50; 50-429 aminosav). A fehérjeexpressziót *E. coli* rendszerre optimalizáltuk. A virális antigén aktivitását, antigenitását Western blot módszerrel ellenőriztük. A fehérjék N terminálisán lévő hisztidin (6xHis) motívumra specifikus monoklonális anti-6xHis antitestet és poliklonális anti-DOBV humán IgG antitestet használtunk a kísérletben. Mindkét esetben megfelelő intenzitású jelet kaptunk, ami egyértelműen a fehérje aktív immunológiai állapotára utalt.

A hantavírus fertőzések során a nukleokapszid protein indukálja a legnagyobb mértékben a humorális immunválaszt. Az NP N terminális végén elhelyezkedő lineáris epitópok ellen termelődött antitestek nem típusspecifikusak, így jelentős keresztreakciót mutatnak a hantavírus genus tagjai között különböző szerológiai tesztekben használva. A legvariánsabb régiók pedig az 50-80 és 230-310 aminosavak között helyezkednek el. Azon rekombináns hantavírus nukleoproteinek, melyekről hiányoznak az N terminális rész lineáris epitópok, kiválóan alkalmasak a különböző szerotípusok megállapítására.

Ahhoz, hogy ELISA tesztünket megbízhatóan használjuk rágcsáló illetve humán szérumok vizsgálatához, meg kellett határoznunk annak specificitását és szenzitivitását, melyet kereskedelmi forgalomban kapható DOBV és HTNV specifikus ELISA tesztel összehasonlítva végeztük el. A vizsgálatához összesen 50 humán szérum állt rendelkezésünkre. A gyártó utasításait követve elvégeztük a vizsgálatot, melynek eredményeként 8 DOBV pozitív és 42 DOBV negatív mintát határoztunk meg. Az rNP50 antigén alapú saját ELISA-val szintén megvizsgáltuk az 50 vérmintát. A nyolc szérumból hét esetben mi is megállapítottuk az anti-DOBV IgG pozitivitást. A 42 negatív savó közül is mindössze egy esetben kaptunk álpozitív eredményt. Ezek alapján a specificitást 97,6%-ban, a szenzitivitást 88,8%-ban állapítottuk meg a piacon elérhető Reagena tesztel összehasonlítva.

Vizsgálatainkban sikerrel alkalmaztunk csonka rekombináns antigént mind humán, mind pedig állati minták specifikus tesztelésében.

A DOBV gyakoriságának megállapítása

A már előzetesen rRT-PCR segítségével tesztelt 125 *Apodemus* egeret az általunk optimalizált ELISA módszerrel is megvizsgáltuk. Ennek alapján elmondhatjuk, hogy a 125 egyedből 21 állat (10 Aa és 11 Af), az egyedek 17%-a pozitív lett legalább az egyik módszerrel. Ezek közül öt állat (4%) volt rRT-PCR és ELISA pozitív, szintén öt állatnál (4%) csak virális nukleinsavat, míg 11 rágcsálónál (8,8%) csak specifikus antitestet sikerült kimutatni. Az eltérés oka, a rágcsálókban megfigyelhető, három szakaszra osztható fertőzési folyamat ismeretében magyarázható. Az első fázisban, a fertőzést követő napokban a vírus gyorsan szaporodik a tüdőben. Feltételezhető tehát, hogy a kórokozót elsősorban molekuláris biológia technikákkal lehet nagyobb eséllyel kimutatni a fertőzés ezen szakaszában. Az immunrendszer válasza később indul be, így szerológiai módszerekkel a vírus elleni antitestek kimutatása nehezebb. A következő periódusban, a fertőzést követő 14-16. naptól kezdődően az immunválasz szerepe jelentősen növekszik, a kórokozó mennyisége csökkenést mutat a tüdőben. Ebben a szakaszban nagy biztonsággal mindkét módszerrel igazolni lehet a fertőzés tényét. A harmadik stádiumban a fertőzéssel szemben fellépő immunológiai folyamatok kiteljesednek ezzel párhuzamosan szinte teljesen visszaszorul a kórokozó mennyisége. Ennek megfelelően ebben az esetben elsősorban a szerológiai módszerek igazolják a fertőzést.

A szerológiai és rRT-PCR vizsgálatok eredményeinek ellentmondásából következik, hogy a két módszer együttes alkalmazásával megbízhatóbb eredményeket kapunk a hantavírusok előfordulásának megállapítására. Korábbi tanulmányokban rendszerint csak a szerológiailag pozitív mintákkal végeztek további molekuláris vizsgálatokat. Ezáltal

feltételezhetjük, hogy ezekben a vizsgálatokban a fertőzés előfordulása alábecsült. Plyusnina és munkatársai (2009) a fent említett módon vizsgáltak Magyarországon csapdázott rágcsálók mintáit, annak érdekében, hogy megállapítsák a DOBV, SAAV és PUUV prevalenciáját. Eredményeik alapján elmondható, hogy az általuk vizsgált 362 *Apodemus sp.* 10,5%-a (38/362) lett szerológiai módszerrel pozitív, melyből mindössze kettő esetben sikerült további RT-PCR vizsgálattal kimutatni a virális nukleinsavat. A molekuláris vizsgálatokkal megerősített pozitív minták aránya 0,5% volt, míg ez az érték a mi vizsgálatainkban 16-szor magasabb, 8%-os értéket mutatott. A környező országokban végzett felmérésekben a kutatócsoportok hasonló eljárásmodot alkalmaztak. Plyusnina és munkatársai (2011) Horvátországban szintén elvégezték az előbb említett kísérleteket. Összesen 332 *Apodemus* nemzetségbe tartozó egyed vizsgáltak Western blot módszerrel, és 20 egyednél (2 *A. agrarius*, 6 *A. flavicollis*, 12 *A. sylvaticus*; 6,3%) sikerült azonosítani a nukleokapszid antigént. Amennyiben csak az Aa és Af fertőzöttségét nézzük, akkor 5%-os pozitívítást kaptak (8/159). A 20 állat tüdőszövetét használták további molekuláris vizsgálatra, amellyel megerősítették a 2 Aa fertőződését, a 6 Af-ből azonban csak 4 esetben mutatták ki a virális RNS-t. Avsic-Zupanc és munkatársai még 2000-ben mérte fel Szlovéniában (a DOBV kimutatásának első helyszínén) a vírus gyakoriságát és genetikai variabilitását 260 *Apodemus* (231 Af, 21 Aa, 8 As) egyed vizsgálva. Az állatok 20,4%-a mutatott szeropozitivitást IFA és ELISA tesztekben (53/260), melyből 49 Af és 4 Aa volt, közöttük 27 egyed volt RT-PCR pozitív, illetve nested PCR segítségével további 23 rágcsálónál sikerült molekulárisan is igazolni a fertőzést.

Kitekintés, módszerünk további felhasználási területei

Rekombináns virális antigén alapú ELISA módszerünk lehetőséget adott nemcsak a rágcsálók virológiai vizsgálatára, hanem további humán kutatási/diagnosztikai vizsgálatok kivitelezésére is. A PTE, Klinikai Központjának (KK) számos intézetével szoros kapcsolatot alakítottunk ki, aminek eredményeként hantavírus fertőzés gyanújával kórházi ápolást igénylő betegek mintáit tudtuk tesztelni. Ezen vizsgálatok eredményeként számos érdekes hantavírus fertőzést igazoltunk. Előzetes szerológiai vizsgálati eredményeket több esetben molekuláris módszerekkel is megerősítettük, ami egyértelműen igazolta a hantavírus fertőzés tényét. Így sikerült kimutatnunk első ízben DOBV mimikálta akut vakbélgyulladást.

ELISA rendszerünk alkalmazásával lehetőség nyílt további szerológiai, terjedés-dinamizmus vizsgálatok elvégzéséhez is. Ezek a tanulmányok nagyban hozzájárulnak a vírus terjedésének pontosabb megértéséhez.

Felhasznált irodalom

Avsic-Zupanc T, Nemirov K, Petrovec M, Trilar T, Poljak M, Vaheri A, Plyusnin A (2000): Genetic analysis of wild-type Dobrava hantavirus in Slovenia: co-existence of two distinct genetic lineages within the same natural focus. *J Gen Virol*; 81(Pt 7): 1747-55.

Klempa B, Avsic-Zupanc T, Clement J, Dzagurova TK, Henttonen H, Heyman P, Jakab F, Krüger DH, Maes P, Papa A, Tkachenko EA, Ulrich RG, Vapalahti O, Vaheri A (2012): Complex evolution and epidemiology of Dobrava-belgrade hantavirus: definition of genotypes and their characteristics. *Arch Virol*; Epub.

Plyusnin A, Vapalathi O, Vasilenko V, Henttonen H, Vaheri A (1997): Dobrava hantavirus in Estonia: does the virus exist throughout Europe? *Lancet*; 349(9062): 1369-70.

Plyusnina A, Ferenczi E, Rácz GR, Nemirov K, Lundkvist A, Vaheri A, Vapalathi O, Plyusnin A (2009): Co-circulation of three pathogenic hantaviruses? Puumala, Dobrava and Saaremaa in Hungary. *J Med Virol*; 81(12):2045-52.

Plyusnina A, Krajnović LC, Margaletić J, Niemimaa J, Nemirov K, Lundkvist A, Markotić A, Miletić-Medved M, Avsic-Zupanc T, Henttonen H, Plyusnin A (2011): Genetic evidence for the presence of two distinct hantaviruses associated with *Apodemus* mice in Croatia and analysis of local strain. *J Med Virol*; 83(1): 108-14

PUBLIKÁCIÓK

A disszertáció alapjául szolgáló tudományos közlemények:

Jakab F, Sebők J, Szántó Z, Hang D, Imre M, **Németh V**, Madai M, Oldal M, Kovács T, Wittmann I (2011): Dobrava-Belgrade hantavirus infection mimics acute appendicitis. *J Clin Virol*; 50 (2): 164-6. (2011, IF: 3,969)

Németh V, Madai M, Maráczai A, Bérczi B, Horváth G, Oldal M, Kisfali P, Bányai K, Jakab F (2011): Detection of Dobrava-Belgrade hantavirus using recombinant-nucleocapsid-based enzyme-linked immunosorbent assay and SYBR Green-based real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Arch Virol*; 156 (9):1655-60. (2011, IF: 2,111)

A disszertáció alapjául szolgáló konferencia előadások és poszterek:

Németh V, Madai M, Bérczi B, Maráczai A, Horváth G, Oldal M, Kovács T, Jakab F: Seroprevalence and genetic characterization of Dobrava and Saaremaa hantaviruses among rodents (*Apodemus agrarius*, *A. flavicollis*) in Hungary and Northern Croatia. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Vienna, Austria, 10-13 April 2010

Németh V, Madai M, Bérczi B, Maráczai A, Horváth G, Oldal M, Kovács T, Jakab F: High prevalence of Dobrava-Belgrade and Saaremaa hantaviruses among *Apodemus* mice in Hungary and Northern Croatia. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Kongresszusa*, Keszthely, 2010. október. 12-15.

Németh V, Madai M, Bérczi B, Maráczai A, Horváth G, Oldal M, Kovács T, Jakab F: Seroprevalence and genetic characterization of Dobrava and Saaremaa hantaviruses among rodents (*Apodemus agrarius*, *A. flavicollis*) in Hungary and Northern Croatia. *20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*; Vienna, Austria, 10-13 April 2010

Németh V, Madai M, Bérczi B, Maráczai A, Horváth G, Oldal M, Bányai K, Jakab F: Detection of Dobrava-Belgrade hantaviruses among *Apodemus* mice in Hungary and Northern Croatia. *6th European Congress of Mammalogy (ECM)*; Paris, France, 19-23 July, 2011

Egyéb tudományos közlemények:

Jakab F, **Németh V**, Oldal M, Varga L, Nyul Z, Mitchell DK, Matson DO, Szucs G (2010): Epidemiological and clinical characterization of norovirus infections among hospitalized children in Baranya County, Hungary. *J Clin Virol*; 49 (1): 75-6. **(2010, IF: 4,023)**

Németh V, Oldal M, Egyed L, Gyuranecz M, Erdélyi K, Kvell K, Kalvatchev N, Zeller H, Bányai K, Jakab F: European brown hare as reservoir for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Hungary. *Vector Borne Zoonotic Dis*; doi:10.1089/vbz.2012.1011. **(2011, IF: 2,437)**

Egyéb konferencia előadások és poszterek:

Kollár V., **Németh V**, Jakab F, Varga L, Nyúl Z, DK. Mitchell, DO. Matson, Szűcs Gy.: Humán norovírusok által okozott fertőzések jellemzése, epidemiológiai, klinikai és molekuláris biológiai vonatkozásban Magyarországon. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Kongresszusa*, Keszthely, 2006. október 18-20.

Szatmári D, Huber T, **Németh V**, Kollár V, Grama L, Kellermayer M: A titin mechanoszenzor tulajdonságainak vizsgálata. 38. *Membrán-Transzport Konferencia*, Sümeg, 2008. május 20-23.

Szatmári D, Huber T, **Németh V**, Kollár V, Grama L, Kellermayer M: Dissecting the mechanosensor functions of titin. *9th International Symposium on Instrumental Analysis*; Pécs, Hungary, June 29-July 2, 2008

Németh, Oldal M, Kemenesi G, Gyuranecz M, Kvell K, Kalvatchev N, Zeller H, Bányai K, Jakab F: Serologic evidence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection in Hungary. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Kongresszusa*; Keszthely, 2012. október 24-26.

Madai M, Oldal M, **Németh V**, Horváth G, Dóró R, Kemenesi G, Pintér R, Bányai K, Jakab F: Prevalence of shrew-borne hantaviruses among insectivores captured in the transdanubian region of Hungary. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Kongresszusa*; Keszthely, 2012. október 24-26.

Oldal M, **Németh V**, Madai M, Dóró R, Kemenesi G, Pintér R, Bányai K, Jakab F: Detecting Dobrava-Belgrade and Puumala virus infections in Hungarian forestry workers by ELISA and Western Blot analyses. *Magyar Mikrobiológiai Társaság Kongresszusa*; Keszthely, 2012. október 24-26.

Németh V, Oldal M, Kemenesi G, Gyuranecz M, Kvell K, Kalvatchev N, Zeller H, Bányai K, Jakab F: Serologic evidence of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus infection in Hungary. *International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance*; Vienna, Austria, February 15-18, 2013