

**A humán calicivírusok molekuláris epidemiológiája
Magyarországon**

Dr. Reuter Gábor

A Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szolcsányi János
Programvezető: Prof. Dr. Emőd Levente
Témavezető: Dr. Szűcs György egyetemi magántanár

Pécsi Tudományegyetem, ÁOK Orvosi Mikrobiológiai és Immunitástani Intézet
ÁNTSZ Baranya Megyei Intézete, Regionális Virologiai Laboratórium

Pécs, 2002

BEVEZETÉS

A fertőző ágensek által okozott hasmenéses kórképek (gastroenteritisek) a mai napig világszerte vezető közegészségügyi és járványügyi jelentőségűek, és számos, részben új problémát jelentenek. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) adatai szerint évente csak a nyilvántartott esetek száma kb. 4 milliárd a Föld lakossága körében, melyek közül 2-3 millió fertőzés halállal végződik. A valódi nagyságrendekről csak becslések vannak. Különösen jelentősek a bélrendszeri fertőzések a gyermekkori morbiditás és mortalitás tekintetében. A fertőzési feltételek egyes alapelemei napjainkban erősödtek és új utak is megnyíltak a kórokozók számára (immunhiányos és immunszuppresszált állapotok, nosocomiális fertőzések, higiénés fegyelem lazulása, az élelmiszerek világkereskedelme, környezetszennyezés stb.), illetve az immunizálás kérdései továbbra sem megoldottak. Az iparilag fejlett országok a halálozások csökkentésében értek el nagy eredményeket.

John Zahorsky 1929-ben „winter vomiting disease” (hyperemesis hiemis) néven írt először az ismeretlen eredetű, nem bakteriális járványos gastroenteritistről. De csak az 1940-50-es években mesterségesen kiváltott emberi fertőzési kísérletek hívták fel a figyelmet a gastroenteritisekben a baktériumoknál kisebb mikroorganizmusok lehetséges szerepére („transmissible agents” - átvihető ágensek). A kísérletek végül csak 1972-ben vezettek eredményre. Ekkor Kapikian az egyesült államokbeli Norwalk városban, 1969-ben lezajlott iskolai járványból származó székletminták immun-elektronmikroszkópos vizsgálatával leírta a Norwalk ágent, mely ma a *Caliciviridae* család tagja, és amely az első bizonyíték volt arra, hogy vírus is lehet kórokozó az emberi gyomor-bélrendszerben.

Az elmúlt 30 év erőfeszítései következtében jelentősen megnőtt az elektronmikroszkóppal igazolt, az emberi gyomor-bélrendszerhez adaptálódott és gastroenterális megbetegedést okozó vírusok száma. Megkezdődött, és napjainkban is tart jelentőségük, epidemiológiai szerepük és a klinikai jellegzetességeik feltérképezése a megbetegedésekben. A vizsgálatoknak igazi lökést azonban csak a molekuláris biológiai módszerek megjelenése adott. Ma több mint 12, székletből kimutatott, genetikailag is elkülönített vírust ismerünk, és az is tisztázódni látszik, hogy a mikroorganizmusok által okozott heveny gastroenteritisek többsége virális eredetű. A vírusok közül is kiemelkednek epidemiológiai jelentőségükkel a humán calicivírusok.

A mikróbas gastroenteritisek epidemiológiája Magyarországon

A magyarországi fertőzőbeteg nyilvántartás adatai szerint 1998, 1999, 2000 és 2001 évek sorrendjében a bélrendszeri fertőző megbetegedések 67; 48; 37; 37%-át baktériumok, 0,4; 0,2;

0,1; 0,2%-át élőködők okozták, az esetek további 33;51;63;63%-ban a fertőzés ismeretlen maradt. Csak feltételezhető, hogy más ismert emberi vírusokkal együtt a humán calicivírusok is az ismeretlen kórokú, 1998-tól „enteritis infectiosa” néven kötelezően bejelentendő és emelkedő számú esetek között lehetnek. Az ebben a betegségcsoportban bejelentett megbetegedettek száma 1998-ban 13879, 1999-ben 25629, 2000-ben 35080, 2001-ben 33850 fő volt. 2002 év első 17 hetében 40%-al több ilyen megbetegedést jelentettek, mint a 2001. év hasonló időszakában. A „Norwalk-szerű vírusok” (NLV-ok) hazai kóroki szerepére utalt egy 1992/93-ban végzett szerológiai vizsgálat is. E szerint a 10 éves korosztály 70-90%-a már rendelkezik ellenanyagokkal a NLV-ok két külön genocsoportjába tartozó Norwalk és Mexico vírusokkal szemben.

A HUMÁN CALICIVÍRUSOK (HuCV-ok)

Kapikian felfedezését követően a Norwalk, illetve Norwalk-szerű vírusokat (más néven SRSV-ok=kis kerek-struktúrált vírusok) az 1976-ban Japánban felfedezett „klasszikus” humán calicivírusoktól (calyx: kupa, kehely) eltérő elektronmikroszkópos jellegzetességeik miatt külön kezelték. 1978-ban kiemelték őket a *Picornaviridae* családból, majd 1990-es években végzett molekuláris szintű vizsgálatokat követően 1998 óta, a ma meglévő formában, külön családba, a *Caliciviridae* családba egyesítették őket. A családnak ma négy nemzetsége van: a „Vesivírus”-ok és „Lagovírus”-ok veszélyes állati kórokozók, a „Norwalk-szerű vírusok” (NLV-ok, új javasolt elnevezés: Norovírus) és a „Sapporo-szerű vírusok” (SLV-ok, Sapovírus) pedig a humán calicivírusok (HuCV-ok). A NLV-oknak két genocsoportja (GI és GII) van. Mindkét nemzetségbe ugyanakkor számos genetikai klaszter (genotípus) tartozik (NLV-ok: 14 klaszter; SLV-ok: 4 ismert, illetve feltételezett klaszter).

A „calicivírusok” kis méretű (27-40 nm), burok nélküli, pozitív, kb. 7,3-7,7 hosszúságú, egyszálú örökítő anyagú RNS vírusok. Ma már ismert, hogy a SLV-oknak a NLV-októl való alaki eltérésük az antigenitásban és a genetikai állományuk szerveződésében is megnyilvánul. Ez utóbbival magyarázható a SLV-oknak az állati calicivírusokhoz való közelebbi rokonsága is. A NLV-ok 3 ORF régiója nem szerkezeti fehérjéket (helikáz, cisztein-proteáz, RNS-függő RNS polimeráz), egy 56-60 kDa nagyságú kapszid fehérjét és egy kis szerkezeti fehérjét kódol.

A HuCV-ok - a „Norwalk-szerű vírusok” – az Egyesült Államokban, Angliában, Hollandiában és Japánban kiemelkedő szerepet játszanak a nem bakteriális járványos gastroenteritis fertőzésekben. A szórványos bélfertőzések 15-30%-át, a járványoknak pedig akár a 90%-át is okozhatják. Mead és mtsai 1999-ben 23 millió főre becsülték csak az élelmiszer eredetű HuCV megbetegedések számát az Egyesült Államokban. Tíz éves életkorra mind a

fejlett, mind a fejlődő országokban a populáció 60-100%-ának van kimutatható ellenanyaga NLV-okkal szemben, előbbi területeken elsősorban epidémiás, utóbbin endémiás fertőzést követően. Az immunitás azonban kevésbé ismert és ellentmondásos. Az elmúlt két évben felvetődött a gazdaszervezet genetikai szerepe, specifikus receptorok jelenléte, illetve hiánya a fogékonyságban. A SLV-ok epidemiológiája kevésbé ismert, eddig 100-nál kevesebb szekvenálással is megerősített SLV-t ismerünk. Szerológiai vizsgálatok szerint 12 éves életkorra a populáció 90%-a fertőződik velük, elsősorban az első 5 életévben. Tünetekkel járó SLV fertőzéseket csecsemő és kisgyermekkorban, valamint idősek körében írtak le.

A gyakrabban felismert, és így jelenleg epidemiológiai szempontból előtérben lévő epidémiák leggyakrabban időlegesen zárt vagy félig zárt emberi közösségekben fordulnak elő. A fertőzés forrása az ember, bár újabban felmerült egyes állatok gazda-szerepe is. Fekális-orális úton, szennyezett élelmiszerrel, vízzel, valamint közvetlen és közvetett kapcsolat és a hányás során szóródó aeroszol segítségével terjednek, gyakran másodlagosan (50%). A célszervnek a vékonybelet tekintik, de a fertőzés és klinikai tünetek kialakulásának mechanizmusa ismeretlen. A megbetegedések a mérsékelt égvönön kismértékű téli-tavaszi halmozódást mutatnak. Az enyhe-középsúlyos lefolyású megbetegedést genocsoporttól független tünetek jellemzik: hányinger-hányás (>50%), a nem véres hasmenés, a hasi fájdalom, görcs és a hőemelkedés. További jellegzetesség az alacsony fertőzési dózis, a rövid, 24-48 órás inkubációs, és az ugyancsak rövid, 12-60 órás lefolyási idő. A burok nélküli calicivírusok környezeti hatásoknak jól ellenállnak.

A HuCV-ok jelenleg nem tenyésztethetők, antigén fajtáik (szerotípus) kevésbé ismertek. 1970-80-as években az elektronmikroszkópos vizsgálat volt a diagnosztikai lehetőség, majd közel 20 évig önkéntesek vírustartalmú széklepszűrletekkel történt fertőzése során nyert savópárokból és széklemtintákból indultak ki a szerológiai tesztek. Egységes módszerek hiányában, és az antigének ismerete nélkül a különböző laboratóriumokban használt sokféle szerológiai reagens a vírusok összehasonlítását nagyon megnehezítette, mely a nevezéktanban is tükröződött. Az 1990-es években a Norwalk vírus klónozásával a molekuláris módszerek (RT-PCR, southern blot hybridizáció, szekvenálás), a Norwalk vírus kapszid fehérje expressziójával a virális antigént kimutató enzim-immunoassay (rekombináns EIA) és szerológiai módszerek tárháza nyílt meg és nyit utat a széleskörű molekuláris és szero-epidemiológiai vizsgálatoknak.

A megbetegedésnek különleges kezelése nincs. Súlyosabb só- és folyadékvesztés esetén orális vagy intravénás rehydrációs kezelés, kórházi ellátás is szükségessé válhat (gyakorisága nem ismert). Számos érdekes vakcina fejlesztést megalapozó kísérlet folyik, de oltóanyag jelenleg nem áll rendelkezésre. A hangsúly a fertőzések megelőzésén, a klasszikus közegészségügyi és higiénés rendszabályok betartásán, betartatásán van.

CÉLKITŰZÉSEK

A tanulmány célja, hogy a vizsgált időszakban molekuláris biológiai és a vírusantigént kimutató módszerek alkalmazásával átfogó, országos képet kapjunk az eddig Magyarországon még nem kimutatott és vizsgált, a *Caliciviridae* családba tartozó humán calicivírusok epidemiológiai jelentőségéről és a fertőzések klinikai jellegzetességeiről a heveny, nem bakteriális eredetű gastroenteritis járványokban, részben a szórványos esetekben is.

Másrészt cél volt a cirkuláló vírusok közvetlen kimutatását követően ezek genetikai szintű jellemzése, és a vírusok összehasonlító filogenetikai elemzése a már ismert HuCV genotípusokkal (genetikai klaszterekkel) és vírusokkal, molekuláris epidemiológiai szempontból.

A célkitűzések a következő pontokban foglalhatók össze:

1. Az RT-PCR technika bevezetése és a módszer adaptálása a humán calicivírusok magyarországi molekuláris diagnosztikájának megteremtése érdekében.
2. A humán calicivírusok és járványokban játszott szerepük megismertetése – kezdetben az irodalmi adatok alapján - a hazai szakemberekkel tudományos fórumokon tartott előadásokon és közleményeken keresztül a folyamatos mintabiztosítás és a célzott vizsgálatok érdekében.
3. Az RT-PCR módszer alkalmazása a nem bakteriális eredetű, hazánkban 1998. óta „enteritis infectiosa” néven kötelezően bejelentendő ismeretlen eredetű, heveny gastroenteritis járványok kivizsgálásában az ország egész területét érintően.
4. A humán calicivírusok okozta hazai, heveny gastroenteritis járványok részletes epidemiológiai és klinikai jellegzetességeinek megismerése, és ezek összehasonlítása az irodalmi adatokkal. Epidemiológiai adatgyűjtő kérdőív elkészítése és használata e cél teljesíthetősége érdekében.
5. A HuCV-ok szerepének keresése a nem bakteriális, ismeretlen eredetű szórványos gastroenteritisekben, területileg elsősorban Baranya megyei beteganyagban.
6. Az RT-PCR módszerrel kimutatott vírusok genetikai jellemzése az RNS-függő RNS polimeráz régió szekvencia-, és filogenetikai elemzése segítségével. A jellegzetes hazai, illetve a különleges vírusszekvenciák elhelyezése és bejegyzése a világháló adatbázisában (GenBank, NCBI).
7. Újonnan kidolgozott, vírusantigént kimutató módszer (rekombináns EIA, 9 Norwalk-szerű vírus kapszid antigén elleni ellenanyagokkal; Jiang és mtsai 2001) kipróbálása és kiegészítő alkalmazása a „Norwalk-szerű vírusok” kimutatására.

8. Tevékeny részvétel a humán calicivírusok elterjedtségét és határokon átvélő cirkulációját figyelő európai adatbázis és észlelő rendszer kiépítésében és működtetésében, különös tekintettel az élelmiszer eredetű járványokra.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Széketminták

Járványok. 1998. november és 2002. április között 19 megyéből, 133 „enteritis infectiosa” néven országosan nyilvántartott, heveny, nem bakteriális, ismeretlen kórereditű gastroenteritis járványból 907 székletmintát vizsgáltunk (51, illetve 31 járványból rota- és adenovírus sem volt kimutatható latex agglutinációval). 1999. november után a vizsgálatok prospektív módon történtek. 1998-ból 3, 1999-ből 7, 2000-ből 11, 2001-ből 50, illetve 2002. április 30.-ig 62 járványt vizsgáltunk. Egy-egy járványból átlag 7 (1-77) székletminta állt rendelkezésünkre, melyeket a járvány helye szerinti illetékes városi, megyei ÁNTSZ Intézetei biztosítottak.

Szórványos esetek. 1997. október és 2000. december között 154 (6;1;20;127 minta/év) ismeretlen kórereditű hasmenéses székletmintát vizsgáltunk RT-PCR módszerrel Csongrád (N=2), Heves (N=11) megyékből, illetve Budapestről (N=6), de elsősorban Baranya megyei beteganyagból (N=135), melyek 15 felnőtt és 139, 12 év alatti kórházi vagy járóbeteg ellátásban részesült gyermektől származtak.

Baranya megyéből 2001. január és május között laboratóriumunkba érkezett 371 székletmintából 205 (55%), 12 év alatti életkorú, járó vagy fekvőbeteg gyermekektől származó - rota- és adenovírust nem tartalmazó (latex agglutinációs teszt) - hasmenéses székletmintát is megvizsgáltunk a NLV-t/vírusantigént kimutató direkt módszerrel (rEIA).

A székletminták -20°C -on voltak tárolva a felhasználásig.

RNS izolálás. A PBS-sel 10-50%-ra hígított székletszuszpenziókat 1,1,2-trikloro-1,2,2-trifluoroetán (Serva) tisztítottuk. Centrifugálás után a felülúszóból az RNS-t TRIzol Reagenssel (Gibco BRL) és kloroformmal nyertük ki, izopropanollal kicsaptuk és szárítás után nukleáz mentes vízben oldva -80°C -on tároltuk.

Primerek. A szűrő primereket (p289 sense; p290 és p290A antisense) Jiang és mtsai tervezték 1999-ben, a HuCV-ok RNS-függő RNS polimerázt kódoló gén konzervatív (ORF1) szakaszára. Ez az egyetlen ismert oligonukleotid-pár, mely egyszerre alkalmas a NLV-ok (319 bp) és SLV-ok (331 bp), és egyes állati calicivírusok kimutatására. Egyéb alkalmazott primerek az RNS polimeráz régióra: JV12/JV13 (NLV-ok), SR80/JV33 (SLV-ok).

Reverz transzkripció-polimeráz láncreakció (RT-PCR). Az 50 μl RT-keverékben M-MLV-RT (Promega), 10X PCR buffer (Sigma), MgCl_2 (Zenon Biotechnológia Kft.), dNTP (Promega), RNasin (Promega), sense primer és RNS volt. Az inkubáció 42°C -on, 60 percig zajlott (PTC-

100TM; MJ Research). A hozzáadott 50µl PCR elegyben 10X PCR buffer, MgCl₂, Dupl-A-TaqTM DNS Polimeráz (Zenon Biotechnológia Kft.) és antisense primer volt. A denaturáció 94°C-on (3 perc) zajlott, majd 40 cikusból álló láncreakciót végeztünk (94°C 1 perc, 49°C 2 perc, 72°C 1 perc). A végső extenzió 72°C-on 10 percig tartott. Negatív és pozitív kontrollt minden reakciónál alkalmaztunk.

Gélelektroforézis. A termékeket agaróz (FMC BioProducts) gélben választottuk el (TBE puffer, pH: 8,0). A gél Et-Br-dal festettük, UV fényel világítottuk át és Polaroid 660 típusú filmre archiváltuk. A termékek méretét 100 bp DNS marker (Promega) és Alpha Digidoc 1000 Géldokumentációs Rendszer (Alpha Innotech Corp.) segítségével határoztuk meg.

Klónozás és szekvenálás. 2000. december előtt minden járványból 2-3, illetve minden szórványos mintából a megfelelő méretű terméket pGEM-T II vektorba klónoztuk (Promega). Minden mintából 2 klónt M13 „forward” és „reverse” primerekkel fluorescens festékkel jelölt nukleotidokkal (SequiTherm EXCEL II Long-Read DNA Sequencing Kit, Epicenter Technologies) szekvenáltunk láncterminációs módszerrel (ALFexpress, Pharmacia Biotech).

A 2001. évi RT-PCR módszerrel kiszűrt HuCV járványokból 2-8 vírustartalmú székletmintát küldtünk a hollandiai nemzeti közegészségügyi laboratóriumba (RIVM, National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, Hollandia), ahol a mintákból RNS izolálást követően ugyancsak az RNS polimeráz régióra tervezett JV12/JV13 primerpárral kapott 145 bp nagyságú termékek direkt szekvenálását végezték el.

Szekvencia- és filogenetikai elemzés. A szekvencia-elemzés a GenBank adatbázisát felhasználva OMIGA 2.0 programcsomag (Oxford Molecular Ltd.) és GeneDoc v.2.6.001 program segítségével történt. A filogenetikai elemzéshez PHYLIP v.3.5 (Felsenstein, 1993), illetve MEGA2 (Kumar és mtsai 2001) programokat használtunk. Az ágrajzokat „maximum likelihood” (DNAML) és UPGMA (Jukes–Cantor korrekciós ráta figyelembe vételével) módszerekkel szerkesztettük meg. A NLV/Leeds/90UK vírus polimeráz régióját Harry Vennema (RIVM) bocsátotta rendelkezésünkre.

Rekombináns enzim-immunoassay (rEIA). Nyúlban („capture” antitest), illetve tengerimalacban („detector” antitest) termelt típus specifikus, hyperimmun ellenanyagokat tartalmazó EIA-t állítottunk össze. Az ellenanyagok előállításához 3 GI és 6 GII genocsoportú, reprezentatív, rekombináns módon, baculovírusban kifejezett NLV kapszid antigént (VLP-k) használtunk (Jiang és mtsai 2001). (Pozitívnak tekintettük a reakciót, ha a hyperimmun savóval OD₄₅₀>0,2 értéket kaptunk és a hyperimmun/preimmun hányados >5,0 volt.)

Epidemiológiai adatfeldolgozás, statisztikai elemzés. A HuCV járványok igazolása után a CDC ajánlásait figyelembe vevő, de egy általunk összeállított, 13 pontból álló epidemiológiai és

klinikai kérdéssort küldtünk az érintett járványügyi szolgálatnak. A statisztikai elemzésekhez χ^2 -próbát (Epi Info v.6.0., CDC) használtunk (szignifikancia küszöb: $P < 0,05$).

EREDMÉNYEK

1. Jiang és mtsai irodalmi közleményei alapján és közvetlen segítségükkel is (részben a hatékony primerek közlés előtti átengedésével), standardizált, nemzetközileg elfogadott molekuláris eljárások és módszerek bevezetésével és alkalmazásával - reprodukálható módon - megteremtettük a HuCV-ok közvetlen kimutatásának hazai diagnosztikai hátterét.
2. Hat magyar nyelvű közlemény, előadások, valamint közvetlen tájékoztatás segítségével hívtuk fel a hazai szakemberek figyelmét a HuCV-ok epidemiológiai szerepére a közvetlen kapcsolatfelvétel kiépítése és a vizsgálatokhoz szükséges folyamatos mintabiztosítás érdekében.
3. Ennek eredményeként, közvetlen értesítést követően 1999. év végétől az ismeretlen, nem bakteriális eredetű járványos gastroenteritisek RT-PCR vizsgálatát, az ország egész területét lefedően prospektív módon végeztük el. 1998. november és 2002. április között összesen 133 „enteritis infectiosa” néven jegyzett gastroenteritis járványból 102 (77%) esetben, 907 székletmintából 317-ből (35%) kaptunk, minden esetben a NLV-ok jelenlétét igazoló terméket. 1998-ban 1/3 (33%), 1999-ben 4/7 (57%), 2000-ben 9/11 (82%), 2001-ben 42/50 (84%), 2002. ápriliséig 46/62 (74%) ilyen járványból lehetett HuCV-t RT-PCR módszerrel kimutatni. Élelmiszer és hányadék mintából calicivírust nem sikerült azonosítani. A vizsgálati eredményekről telefonon és írásos formában minden esetben tájékoztattuk az illetékes járványügyi szolgálatot.
4. Vizsgálatainkkal tisztáztuk a hazai HuCV járványok - az irodalmi adatokkal összehasonlítható - epidemiológiai és klinikai jellegzetességeit. A 102 RT-PCR módszerrel igazolt NLV járvány 18 megye 87 településén zajlott le. A legtöbb calicivírus járványt Baranya (15/19), Pest (19/24) és a Balatont határoló megyékből mutattuk ki. A 102 járvány 28%-a kórházi osztályon (N=29), 24%-a idős, illetve szociális otthonban (N=25), 15%-a óvodai (N=15), 8%-a iskolai (N=8), 6%-a kollégiumi/középiskolai közösségben (N=6), 5%-a táborban/gyermektáborban (N=5), 4%-a szállodában/étteremben (N=4) 4%-a óvodában és iskolában (N=4), 2%-a katonai alakulatnál (N=2), 2%-a gyárban (N=2) és 2%-a családban (N=2) zajlott le. A járványok 38%-a (N=39) 18 éven aluli gyermekek, fiatal felnőttek körében alakult ki. Az ismertté vált fertőzési források a gyakoriságuk sorrendjében a következők voltak: közvetlen és közvetett kontaktus (N=44), szennyezett élelmiszer (N=21; pl.: közétkeztetés), ritkábban hányadék és víz. A terjedési módok egyszerre több fajtáját is tetten lehetett érni (pl.: élelmiszer, majd közvetlen kontaktus). Az inkubációs idő 24-60 óra, a lefolyási idő 2-3 nap (szélső érték: 1-7 nap) volt. A járványok hossza átlagosan 6,5 nap (2-53 nap), a gyermekközösségekben 5 nap (2-14) volt. A megbetegedési arány a járványokban 21% (3-92%) volt. Összesen több mint 4731-en betegedtek meg, az exponált

személyek száma több mint 19018 fő volt. Egy járványban átlagosan 51 (2-1015) személy mutatott tüneteket. A legtöbb járványban 32-64 fő között volt a betegek száma. A vezető tünetek a hányás és a hasmenés voltak, és átlagosan a betegek 70%-nál jelentkeztek. Szignifikánsan gyakrabban fordult elő hányás gyermekek ($P<0,001$), illetve hasmenés felnőttek körében ($P<0,001$). Hasi fájdalom 52%-ban, hőemelkedés és láz közel egyenlő gyakorisággal fordult elő a betegek ötöd részénél. A leggyakoribb tünetkombináció a hányás és a hasmenés volt. Kórházi ellátásra 1-7%-ban volt szükség gyermekek és 1-4%-ban 60 évnél idősebbek körében. Gyakori volt – néha nem a szakma szabályai szerint – elrendelt tüneti kezelés. Jelentős számban mutattunk ki járványokat 2001. április-június és szeptember-november között és kiemelkedő számban 2002 első 4 hónapjában.

A megvizsgált 39 kórházi (nosocomiális) járványból RT-PCR módszerrel 29 (74%), az RT-PCR negatív járványokból ($N=10$) rEIA módszerrel még 9 járványból mutattunk ki NLV-okat. Tizenhét (44%) esetben belgyógyászati osztály, 8 (21%) esetben 2-8 kórházi osztály, 6 (16%) esetben ismeretlen osztály, 3 (8%) esetben pszichiátriai osztály, 2 (5%) esetben szemészeti osztály, 1-1 (2%) esetben pedig neurológiai, illetve gyermekgyógyászati osztályok voltak érintve. A betegek körében az egészségügyi személyzet átlag 32%-a (0-80%) mutatott tüneteket. A járványok lefolyási hossza 15 nap (3-53 nap) volt. A kórházi járványok 63%-a 2002 első 4 hónapjában jelentkezett.

A NLV-ok 2001. évre a hazai gastroenteritis járványok kórokozói között az első helyre kerültek, egyezően a 4, jelenleg ilyen adatokkal rendelkező országban (Japán, Amerikai Egyesült Államok, Egyesült Királyság, Hollandia) megfigyelt helyzettel.

5. 1997 és 2000. december között 154 szórványos székletmintából 19 (12%) esetben sikerült HuCV-t kimutatni, melyek közül 12 (63%) a NLV-ok, 7 (37%) a SLV-ok közé tartozott. A 7 (9,7%) SLV 72, 2,5 hetes és 4 év 7 hónapos életkor közötti Baranya megyei beteg gyermek mintájából mutattuk ki 2000. október és december között.

6. A 2001. augusztus végéig a mintákból RT-PCR módszerrel kimutatott calicivírusokat minden esetben szekvenálással is megerősítettük. Szekvencia - és filogenetikai elemzéssel a *Caliciviridae* családba tartozó calicivírusok mindkét humán nemzetségébe (NLV-ok, SLV-ok) és a NLV-ok két genocsoportjába tartozó vírusokat egyaránt sikerült kimutatni és besorolni molekuláris epidemiológiai szempontból. E vírusok összesen 10 különböző genetikai klaszterbe (NLV-ok/GI: Southampton/91/UK ($N_{\text{járvány}}=1$), Desert Shield/90/Saudi Arabia ($N_{\text{járvány}}=1$); NLV-ok/GII: Hawaii/71/US ($N_{\text{járvány}}=18$, $N_{\text{szórványos}}=1$), Lordsdale/93/UK ($N_{\text{járvány}}=14$, $N_{\text{szórványos}}=5$), Hilversum/2001/NET ($N_{\text{járvány}}=4$, $N_{\text{szórványos}}=3$); Melksham/94/UK ($N_{\text{járvány}}=2$), Hillingdon/94/UK

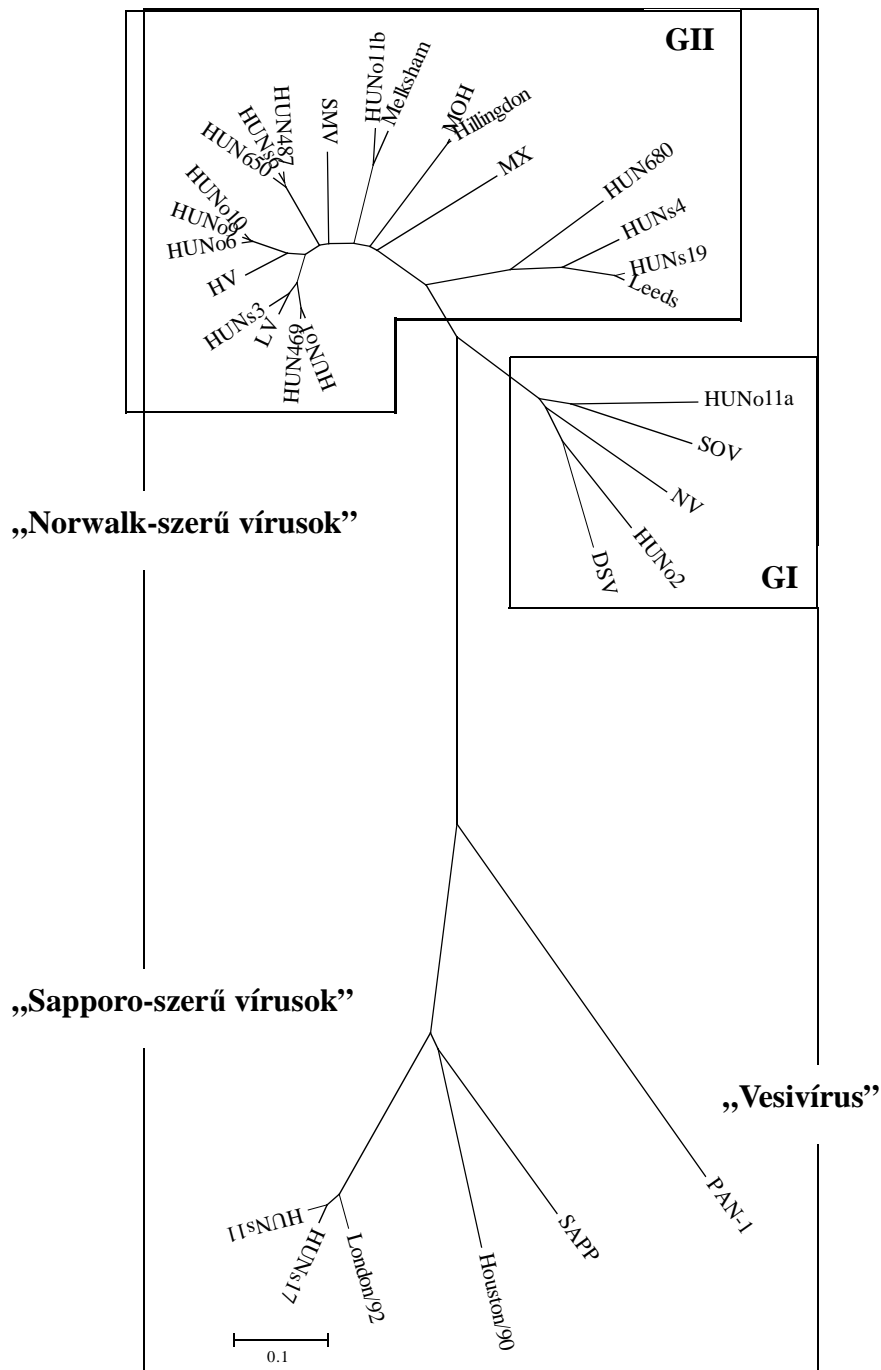
($N_{\text{járvány}}=1$), Leeds/90/UK ($N_{\text{szórványos}}=3$), Amsterdam/98/NET ($N_{\text{járvány}}=1$, SLV-ok: London/92/UK ($N_{\text{szórványos}}=7$) sorolhatók. Három járványból egyidejűleg két eltérő NLV klaszter (GI/Southampton/91/UK - GII/Melksham/94/UK; GII/Hawaii/71/US - GII/Lordsdale/93/UK; GII/Lordsdale/93/UK - GII/Amsterdam/98/NET) volt kimutatható. 1999 év közepétől 2000. októberig a járványokból – ellentétben az irodalmi adatokkal – a Hawaii-szerű vírusok (50%), 2000 végén a Baranya megyei szórványos esetekben pedig a London/92/UK klaszter (70%) túlsúlya volt megfigyelhető. A 2001. január és augusztus között feltehetően egy Lordsdale-Hawaii-Lordsdale genotípusváltás zajlott le. A Hilversum/2001/NET klaszter 2000/2001-ben, mint új, rekombináns klaszter jelent meg Európában (járványok okozójaként hazánkban 2001. április és augusztus között, szórványos Heves megyei esetekből már 2000 utolsó 3 hónapjában), az Amsterdam/98/NET – eddig feltételezett – klaszterbe pedig egy újabb vírusszekvenciát azonosítottunk. Filogenetikai elemzéssel a Hawaii-szerű, a Lordsdale-szerű és a Hilversum-szerű vírusok minimum 3-3, a Leeds-szerű és a London-szerű vírusok 2-2 eltérő genetikai vonalát figyeltük meg hazánkban (1. ábra). Filogenetikai elemzéskor a Leeds- és Amsterdam-szerű vírusok aszerint, hogy a 274 bp vagy a 145 bp hosszúságú polimeráz régióikat vizsgáltuk egyszer a NLV-ok GII, máskor a GI genocsoportjához álltak közelebb. A GenBankban eddig 16 HuCV (13 NLV, 3 SLV) részleges RNS polimeráz régiójának nukleotid és aminosav szekvenciáját helyeztük el (vírusok járványokból: AF397156, AF472566-AF472571, vírusok szórványos esetekből: AF468660, AF488713-AF488721).

7. Az RT-PCR módszerrel továbbra is negatív 31 járvány széketmintáiból rEIA módszer segítségével további 27 (87%) járványban, 88 széketmintából 54-ben (61,4%) lehetett bizonyítani a „Norwalk-szerű vírusok” jelenlétét.

A 2001. január és május hónapok között megvizsgált 205 Baranya megyei szórványos mintából 48 (23,4%) esetben lehetett NLV-t kimutatni nagyobb számban a téli, illetve a májusi hónapokban [január: 32% (20/63), február: 23% (12/52), március: 13% (5/39), április: 7% (2/28), május: 39% (9/23)]. A 48-ból 27 (56%) beteg gyermek 2 év alatti volt és 37 (77%) gyermeket fekvőbetegként tartották nyilván. Sikerült egy új, a PCR módszerrel kimutatható, az rEIA teszttel nem reagáló Norwalk-szerű vírus (Hilversum) azonosítása (HUNs6/2000, AF468660). Az rEIA teszt szenzitivitása 91%, specificitása 85% az RT-PCR módszerrel összehasonlítva.

8. Az Európai Unió „Quality of Life and Management of Living Resources” (QLK1-1999-CT-00594 extension with NAS) programja keretében – a csatlakozó államok közül elsőként - bekapcsolódtunk a NLV-ok európai, nemzetek közötti cirkulációját megfigyelő munkacsoport zárt számítógépes rendszerébe és egyben meghívást kaptunk az EU 6. Keretprogramjában való

részvételre. Az együttműködés biztosítja a határokon átívelő fertőzések időbeni felismerését, folyamatos nyomon követését a fertőzések csökkentése és megelőzése érdekében. Ennek egyik eredménye a 2000/2001. évben, a főleg élelmiszer által terjesztett rekombináns Hilversum vírus Európa több országával egyidőben történt hazai megjelenésének bizonyítása, valamint 2001-ben, az eddig feltételezett Amsterdam/98/NET klaszterbe egy újabb vírus hazai azonosítása, genetikai klaszterként való megerősítése.



1. ábra. A HuCV-ok genotípusainak a 274 bp hosszúságú részleges polimeráz régiók alapján készített távolsági filogenetikai ágrajza (UPGMA módszer, Jukes-Cantor korrekciós ráta figyelembevételével); MEGA2, Kumar és mtai 2001), mely tartalmazza a hazai (HUN, MOH) legjellegzetesebb vírusszekvenciák egy-egy képviselőjét mind a szórványos, mind a járványos esetekből. Viszonyítási csoport: PAN-1. HUNs6:

GIIB/Hilversum klaszter, HUN680: Amsterdam klaszter. LV. Lordsdale, HV: Hawaii, SMV: Snow Mountain, MX: Mexico, SOV: Southampton, NV: Norwalk, DSV: Desert Shield, SAPP: Sapporo.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS KÖVETKEZTETÉS

- A HuCV-ok diagnosztikai feltételeinek megteremtésével sikerült hazánkban (a közép-kelet európai régióból először) a heveny, nem bakteriális gastroenteritis járványokból és szórványos megbetegedésekből humán calicivírusokat közvetlenül, molekuláris és rEIA módszerekkel kimutatni, kóroki szerepüket bizonyítani, és epidemiológiai jelentőségüket meghatározni. Szekvenálással a calicivírusok mindkét humán nemzetségébe („Norwalk-szerű vírusok” és „Sapporo-szerű vírusok”) és a NLV-ok két genocsoportjába (GI és GII) találtunk vírusokat (köztük két új NLV genetikai klasztert: Hilversum és Amsterdam).

- A Magyarországon 1998. november és 2002. április között megvizsgált 133 ismeretlen, nem bakteriális eredetű gastroenteritis járványból 102 (77%) esetben sikerült – minden esetben – a „Norwalk-szerű vírusok” nemzetségébe tartozó vírusokat RT-PCR módszerrel azonosítani. A továbbra is ismeretlen eredetű járványok köréből (N=31) még további 27 (87%) esetben lehetett a NLV-ok jelenlétét rEIA módszerrel kimutatni. Összességében a két módszer együttes alkalmazásával a megvizsgált járványok 97%-ában (129/133) volt bizonyítható a NLV-ok kóroki szerepe, illetve megnevezhető a kórokozó.

- Bizonyítottuk a HuCV-ok – „Norwalk-szerű vírusok” – vezető kóroki szerepét hazánkban (a közép-kelet európai régióból először), az eddig ismeretlen eredetű, „enteritis infectiosa” néven nyilvántartott, jelentős járványügyi nehézséget okozó járványok körében. A 2001. évben a bejelentett fertőzések eredetű gastroenteritis járványok száma 50%-kal nőtt a megelőző 3 év adataihoz viszonyítva, melynek oka - a változatlan számú bakteriális eredetű járvány mellett – az „enteritis infectiosa” járványok bejelentési fegyelmének javulása. E járványok körében 1998. és 2001. között a célirányos RT-PCR vizsgálati szám emelkedésével nőtt a csoporton belül a HuCV-ok kimutatásai aránya (2,2%-10,3%-22,5%-42,9%). Sőt, a 2001. évben a bejelentett 149 enterális járványból a leggyakrabban azonosított kórokozók a „Norwalk-szerű vírusok” voltak (RT-PCR: N=42; 28,2%; RT-PCR és rEIA: N=49, 32,8%) és csak ezt követték a „Salmonellák” (N=37; 24,8%). Bizonyítottuk a NLV-ok vezető kóroki szerepét, és feltártuk az epidemiológiai jellegzetességeit is a kórházi (nosocomiális) gastroenteritis járványokban hazánkban. 2001-ben, az ismertté vált és emelkedő számú bejelentett nosocomiális enterális járványok leggyakrabban (7/31, 22,5%) kimutatott kórokozója volt. A NLV-ok jelentősége ugyanakkor még mindig alábecsült, hiszen 2002 első 4 hónapjáig 62, mindkét módszerrel megvizsgált „enteritis infectiosa” járványból 61 (98,4%) esetben lehetett NLV-okat kimutatni, és a bejelentett nosocomiális járványok minimálisan 66%-át (25/38) ezek a vírusok okozták. A növekvő bejelentési szám ellenére 2001-ben kb. 50-55 epidémiából továbbra is csak bakteriológiai vizsgálatok történtek

kórokozó kimutatása nélkül. Ezek háttérben vírusok kóroki szerepét valószínűsíthetjük. Számításaink szerint évente minimálisan 220-240 felismert, jelentős, 10 főnél több megbetegedéssel járó, de nem bejelentett gastroenteritis járvány kapcsán merülhet fel a HuCV-ok szerepe hazánkban. Hollandiában 51-szerese a 100 ezer lakosra jutó gastroenteritisek morbiditása a hazai adatokhoz képest, és ott a háziorvosi gyakorlatban a NLV-ok szerepét a betegforgalom 5%-ára becsülik.

- Feltártuk a NLV-ok okozta gastroenteritis járványok klinikai és epidemiológiai jellegzetességeit közel 3 éves, folyamatos járványügyi munkával hazánkban. Kiemelhető, hogy ilyen, több éven keresztül tartó, egy teljes országra kiterjedő diagnosztikai munka, molekuláris epidemiológiai vizsgálat a HuCV-ok kimutatására az irodalomban nem ismert, a vizsgálatuk továbbra sem általános, és csak néhány, kutatással foglalkozó laboratóriumban folyik.

- A NLV-ok élelmiszerből való kimutatása, így a fertőzés forrásának közvetlen bizonyítása számos nehézségbe ütközik. Jelenleg csak az epidemiológiai módszerek alkalmasak a fertőzés forrásának meghatározásához. A jövőben a metodikai leírások kidolgozásával a bakteriális indikátorok mellett a HuCV-ok, mint virális indikátorok, valószínűleg tökéletesebb biológiai szennyezettségi mutatók lehetnek.

- A járványok hazai szezonálitását több mesterséges tényező befolyásolhatta. Azonban adataink azt jelzik, hogy a NLV járványok hazánkban bármely évszakban jelentkezhetnek és a járványok tavaszi, nyári eltolódása és halmozódása is előfordulhat. A tengerekkel, óceánokkal határos országokban a szennyezett kagylók a HuCV-ok egyik gyakori és külön nyilvántartott fertőzési forrásai, és befolyásolják a járványok téli szezonális jelentkezését. Hazánkban ezzel a fertőzési forrással nem kell számolni, a fertőzések elsősorban a higiénés fegyelem hiányosságaira vezethetők vissza.

- Először alkalmaztunk hazánkban a NLV/antigén közvetlen kimutatására alkalmas módszert (rEIA), mellyel 27%-kal több NLV járványt azonosítottunk. Az antigének, antigéntípusok pontos megismeréséig és a kereskedelmi forgalomban használható EIA tesztek megjelenéséig a kísérleti rEIA teszt (tesztek) hasznos kiegészítő módszerek a diagnosztikában.

- A GII genocsoportú NLV-ok meghatározó szerepe a járványokban jól ismert, de a hazánkban tapasztalt Hawaii-szerű vírusok (GII) túlsúlya az irodalmi adatoktól eltérő megfigyelés; oka(-i) nem ismert. Az 1990-es évek közepétől a Lordsdale-szerű vírusok okozta járványok száma messze meghaladta más klaszterbe tartó vírusok okozta epidémiák számát és világméretű pandémia okozójaként is azonosították („95-96 subset”). Számos magyarázat született a GI csoporttal szemben a GII NLV-ok gyakoribb kimutatására (eltérő állati rezervoár, virulencia, rezisztencia különbség). Figyelembe kell azonban venni, hogy ellenanyagokat a GI és GII genocsoportú vírusok ellen hasonló nagyságrendben lehet a populációban kimutatni, illetve,

hogy a jelenleg használt primereknek nem ismert a kimutatási spektruma (Nyugat-Európában a szűrővizsgálatra használt primerek fals-negatív eredményt adhatnak GI csoportú vírusok vizsgálatakor!).

- A HuCV-ok genetikai klasztereinek és szerotípusainak száma nem ismert. A valószínűen nagy mutációs rátájú vírusok a „kvázispecies”-ek populációját alkotják. Vizsgálataink hazánkban cirkuláló vírusok genetikai sokszínűségét és a populáció fogékonyságát bizonyítják. Az új GIIB/Hilversum klaszter Nyugat-Európával egyidőben történt kimutatása alátámasztja a HuCV-ok gyors terjedését, illetve másfelől azt, hogy a különböző geno-/szerotípusok (részben megújulva) egyidőben, időszakosan és folyamatosan is képesek a populációban cirkulálni.

- A HuCV-ok különböző „ORF” régiói általában konzekvensen az adott klaszterre jellemző filogenetikai mintázatot adnak. Az ettől való eltérés oka lehet a genotípusok társfertőzése vagy a természetes rekombináció lehetősége (Ild.: GIIB/Hilversum; eltérő polimeráz és kapszid régió). A Leeds-szerű vírusok filogenetikai helyváltoztatása ráirányítja a figyelmet, hogy a polimeráz régió vizsgálata rendkívül hasznos molekuláris epidemiológiai szempontból, de a vírusok jellemzése csak a 3 ORF, illetve a kapszid régió ismeretében lehet teljes.

- Vizsgálataink és eredményeink egyik legfontosabb gyakorlati következményének tartjuk, hogy hazánkban megváltozott a járványügyi szakemberek szemlélete és gyakorlata a gastroenterális tünetekkel járó esethalmozódások kivizsgálásában és a járványügyi intézkedések elrendelése terén, különösen a kórházi járványok esetében. Az egészségügyi intézményekben adataink szerint 2-4-szer hosszabb ideig tartanak a járványok, több osztályt érintenek, nosocomialis eredetűek és jelentős költségekkel járnak.

- A laboratóriumunkba érkezett nem bakteriális, nem rota-, adenovírus eredetű szórványos gastroenteritisekből átlagosan 23,4%-ban azonosítottunk NLV-okat rEIA módszerrel Baranya megyéből. Jelentősnek mondható a SLV-ok aránya az RT-PCR módszerrel igazolt HuCV-ok körében. Utóbbi oka a szűrővizsgálatra alkalmazott primer tulajdonsága, illetve a mintaválasztás lehet. A SLV-ok ugyanis enyhébb klinikai tüneteket okoznak. A 7 SLV tartalmú minta közül 5 ambulánsan ellátott beteg gyermektől származott.

- Ma már vizsgálatainkkal és eredményeinkkel bizonyítható, hogy a hányással-hasmenéssel járó gastroenteritis járványok elsődleges kórokozói - a visszaszoruló baktériumok előtt - a vírusok, ezen belül is kiemelkedő közegészségügyi jelentőségűek a HuCV-ok („Norwalk-szerű vírusok”). Ez szemléletváltozást indított el hazánkban az egyoldalú, elsősorban a bakteriális kóreredetet szem előtt tartó diagnosztikai sorrendben is.

A NLV-ok a leggyakoribb kóroki tényezők a gastroenteritis járványokban, a leggyakoribb virális ágensek az ételmiszerrel terjedő fertőzésekben, és a második legfontosabb virális kórokozók a – a rotavírusok mellett – a súlyos lefolyású gyermekkori gastroenteritisekben. Jelentőségük

négy tényezőre vezethető vissza: az alacsony fertőzési dózissra, a környezeti hatásokkal szembeni ellenálló képességükre, a vírusok sokszínűségére (genetikai instabilitására) és a hosszú távú immunitás hiányára. Meg kell jegyezni, hogy az állati és emberi calicivírusok elkülönítése mesterséges. Az utóbbi időben vált ismertté a calicivírusok faji határok közötti átjárása, sőt egyes veszélyes állati calicivírusok emberi kórképekkel való kapcsolata is (zoonózis), melyek újabb kihívást jelentenek a humán gyógyászatban. Tulajdonságaik és evolúciós alkalmazkodó képességük miatt a calicivírusok „modellvírusnak” is javasolhatók az ember és környezet kölcsönhatásának vizsgálatára. Szerepük felismerése oda vezetett, hogy az Európai Unió immár évek óta külön és kiemelten támogatja e vírusok kutatására és a fertőzések átvitelének visszaszorítására tett erőfeszítéseket, a nemzetek közötti együttműködést, beleértve laboratóriumunk csatlakozási lehetőségét is.

A TÉMÁHOZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK

Közlemények

Reuter G, Kátai A, Kálmán M, Szűcs Gy: Humán calicivírus fertőzés első magyarországi igazolása. Orvosi Hetilap 2000; 38:2071-2074.

Reuter G, Szűcs Gy: Humán calicivírusok – az akut virális gastroenteritis megbetegedések és járványok gyakori kórokozói. Infektológia és Klinikai Mikrobiológia 2000; 3-4:93-99.

Reuter G, Kucsera S, Somogyi Gy, Lencsés Gy, Szűcs Gy: Humán calicivírus-járvány kórházi osztályon. Orvosi Hetilap 2001; 9:459-463.

Reuter G, Farkas T, Berke T, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Sapporo-szerű vírusok ismeretlen kóreredetű, szórványos gastroenteritisekben. Orvosi Hetilap 2002; 7:351-354.

Szűcs Gy, **Reuter G**: Mit kell tudni a humán calicivírusokról. Magyar Orvos 2002; 2:49-50.

Farkas T, Berke T, **Reuter G**, Szűcs Gy, Matson DO, Jiang X: Molecular detection and sequence analysis of human caliciviruses from acute gastroenteritis outbreaks in Hungary. Journal of Medical Virology 2002; 67:567-573. [IF-2000: 3,289]

Reuter G, Szűcs Gy: Humán calicivírusok („Norwalk-szerű vírusok”) okozta gastroenteritis járványok gyermekközösségekben Magyarországon, 1998-2001. Gyermekgyógyászat 2002; 53:427-435.

Reuter G, Farkas T, Berke T, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Molecular epidemiology of human calicivirus gastroenteritis outbreaks in Hungary, 1998 to 2000. Journal of Medical Virology 2002; 68:390-398. [IF-2000: 3,289]

Reuter G, Farkas T, Berke T, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Detection and genetic analysis of Norwalk- and Sapporo-like viruses from sporadic gastroenteritis infections in Hungary. (előkészületben)

Reuter G, Jiang X, Szűcs Gy: A „Norwalk-szerű vírusok” vezető kóroki szerepe a kórházi (nosocomiális) gastroenteritis járványokban Magyarországon (előkészületben)

Reuter G, Szűcs Gy: „Norwalk-szerű vírusok” kimutatására alkalmas EIA kitek. – Összehasonlító vizsgálatok és első tapasztalatok (előkészületben)

Folyóiratban közölt, idézhető előadás kivonatok

Reuter G, Farkas T, Berke T, Bányai K, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Humán calicivírus fertőzések kimutatása hazánkban. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2000; Suppl.1:S11.

Szűcs Gy, **Reuter G, Bányai K, Új M:** A molekuláris vizsgálatok eredményei megváltoztatták a humán calicivírusok klinikai jelentőségét és rendszertanát. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2000; Suppl.1:S11.

Szűcs Gy, **Reuter G, Bányai K, Jakab F, Új M:** Importance, detection, and taxonomic classification of human caliciviruses. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 2001; 48:209-210.

Reuter G, Kátai A, Kálmán M, Farkas T, Berke T, Bányai K, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: First detection of human calicivirus in a food-borne outbreak in Hungary. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 2001; 48:266-267.

Reuter G, Farkas T, Berke T, Jiang X, Szűcs Gy, Matson DO: Molecular epidemiology of human calicivirus gastroenteritis outbreaks in Hungary, 1998/2000. *Journal of Clinical Virology* 2001; 22:170.

Reuter G, Szűcs Gy: A „Norwalk-szerű vírusok” vezető kóroki szerepe a kórházi (nosocomialis) gastroenteritis járványokban, Magyarországon. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia* 2002; Suppl.1:S7.

Reuter G, Farkas T, Berke T, X Jiang, Szűcs Gy, DO Matson: Genetic diversity of human caliciviruses detected in Hungary between 1998 and 2000. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica* 2002. (nyomtatásban)

Konferencia, előadás és poszter demonstráció

Farkas T, Berke T, **Reuter G, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy:** Molecular detection and sequence analysis of four human calicivirus (HuCV) isolates from acute gastroenteritis (GE) outbreaks in Hungary. 19th Annual Meeting of the American Society of Virology, Fort Collins, Colorado, USA, 2000.

Reuter G, Kátai A, Kálmán M, Farkas T, Berke T, Bányai K, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Humán calicivírus fertőzés első igazolása élelmiszer-járványból Magyarországon. First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, 2000.

Szűcs Gy, **Reuter G, Bányai K, Jakab F, Új M:** A humán calicivírusok jelentősége, kimutatásuk és taxonómiai osztályozásuk. First Joint Meeting of the Slovenian Society for Microbiology and the Hungarian Society for Microbiology, Keszthely, 2000.

Reuter G, Kucsera S, Somogyi Gy, Lencsés Gy, Szűcs Gy: Humán calicivírus-járvány kórházi osztályon. Magyar Higiénikus Társaság Nemzeti Kongresszusa, Debrecen, 2000.

- Reuter G**, Farkas T, Berke T, Bányai K, Jiang X, Matson DO, Szűcs Gy: Humán calicivírus fertőzések kimutatása hazánkban. Magyar Infektológiai Társaság, Budapest, 2000.
- Szűcs Gy, **Reuter G**, Bányai K, Új M: A molekuláris vizsgálatok eredményei megváltoztatták a humán calicivírusok klinikai jelentőségét és rendszertanát. Magyar Infektológiai Társaság, Budapest, 2000.
- Szűcs Gy, **Reuter G**: Calicivírusok molekuláris diagnosztikája. Johan Béla Epidemiológiai Központ, Budapest, 2001.
- Szűcs Gy, **Reuter G**: Virális gastroenteritisek. Johan Béla Epidemiológiai Központ, Budapest, 2001.
- Maszárovics Z, **Reuter G**, Szűcs Gy, Kissik I, Enyedi J: Humán calicivírusok jelentősége és jelenléte Heves megyében. Magyar Gyermekorvosok Társasága, Észak-Kelet Magyarországi Szakosztályának Tudományos Ülése, Eger, 2001.
- Reuter G**, Farkas T, Berke T, Jiang X, Szűcs Gy, Matson DO: Molecular epidemiology of human calicivirus gastroenteritis outbreaks in Hungary, 1998-2000. 5th Annual Meeting of the European Society for Clinical Virology, Lahti, Finnország, 2001.
- Reuter G**, Farkas T, Berke T, X Jiang, DO Matson, Szűcs Gy: Magyarországon izolált humán calicivírusok genetikai diverzitása, 1998/2000. Magyar Mikrobiológiai Társaság 50. Jubileumi Nagygyűlése, Balatonfüred, 2001.
- Maszárovics Z, **Reuter G**, Kissik I, Enyedi J, Szűcs Gy: Humán calicivírusok (HuCVs) detektálása Heves megyében. XX. Heves Megyei Orvos- Gyógyszerész és V. Szakdolgozói Napok, Gyöngyös, 2001.
- Szűcs Gy, **Reuter G**, Krisztalovics K: A humán calicivírus járványok gyakorlati diagnosztikai tapasztalatai. Országos Bakteriológiai Értekezlet, Hévíz, 2002.
- Reuter G**, Szűcs Gy: A „Norwalk-szerű vírusok” vezető kóroki szerepe és epidemiológiája az akut gastroenteritis járványokban, Magyarországon. Magyar Mikrobiológiai Társaság, Balatonfüred, 2002.
- Reuter G**, Szűcs Gy: A „Norwalk-szerű vírusok” vezető kóroki szerepe a kórházi (nosocomiális) gastroenteritis járványokban, Magyarországon. Magyar Infektológiai Társaság, Szekszárd, 2002.

EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

- Palya V, Glávits R, Dobos-Kovács M, Ivanics É, Nagy E.-né, Bányai K, **Reuter G**, Szűcs Gy, Dán Á, Benkő M: Reovirus identified as cause of disease in young geese. Avian Pathology 2003; 32: (közlésre elfogadva) [IF-2000: 1,428]
- Bányai K, Jakab F, **Reuter G**, Bene J, Új M, Melegh B, Szűcs Gy: Sequence heterogeneity among human picobirnaviruses in a gastroenteritis outbreaks. (közlésre benyújtva)