

Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

**Magyarországon endémiás zoonotikus
flavivírusok mikrobiológiai diagnosztikai
célú vizsgálata**

Nagy Anna

Témavezető: Dr. Takács Mária



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2021

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Dr. Takács Mária

Nemzeti Népegészségügyi Központ
Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály
témavezető

Némethné Dr. Szomor Katalin
Nemzeti Népegészségügyi Központ
Mikrobiológiai Referencia Laboratóriumi Főosztály
témabizottsági tag

Készült 8 példányban. Ez a sz. példány.

.....
Nagy Anna

Előzmények

Az újonnan felbukkanó, más néven *emerging* vagy *re-emerging* kórokozókra fókuszáló kutatások a virológia legaktuálisabb és leggyorsabban változó területét képezik. Olyan ágenseket sorolhatunk e kategóriába, melyeknek humán vagy állategészségügyi jelentősége van, azonban kóroki szerepük korábban nem volt ismert vagy ismert volt ugyan, de az okozott megbetegedések incidenciájában növekedés tapasztalható, például mert a fertőzések földrajzi elterjedése kiterjedt vagy mert a kórokozó fokozott patogenitást mutat. A virális zoonózisok – azaz állatról emberre terjedő vírusok – többsége tipikus *emerging* vagy *re-emerging* ágens. E kategórián belül egy külön csoportot képeznek az ún. arbovírusok (*arthropod-borne viruses*), azaz ízeltlábú vektorok által terjesztett vírusok. Magyarországon az arbovírusok által okozott humán megbetegedések kapcsán a *Flaviviridae* család *Flavivirus* nemzetségét érdemes kiemelni. Az értekezés célja az országban endémiásan előforduló és éves rendszerességgel humán megbetegedéseket okozó flavivírusok, azaz elsősorban a kullancsencephalitis- (TBEV: *tick-borne encephalitis*

virus) és nyugat-nílusi vírus (WNV: *West Nile virus*) által okozott humán megbetegedések kivizsgálása volt.

A WNV és TBEV fertőzések laboratóriumi diagnosztikájában alapvető a szerológiai módszerek alkalmazása, hiszen a korábbi tapasztalatok szerint a klinikai tünetek megjelenésekor vér- és gerincvelői folyadék (liquor) mintából a vírus nukleinsava már nem, vagy csak kis valószínűséggel mutatható ki. Azonban az ellenanyagkimutatás flavivírusok esetén számos problémába ütközhet, melyek közül differenciáldiagnosztikai szempontból legfontosabb a nemzetségen belüli szerológiai keresztreaktivitást kiemelni. Ez a Magyarországhoz hasonló földrajzi területeken – ahol több flavivírus együttes cirkulációja figyelhető meg – problémát jelenthet a laboratóriumi diagnosztika során, különösen a secunder flavivírus fertőzések vagy koinfekció-gyanús esetek elbírálásakor. Az esetkonfirmálások és a diagnosztikai szenzitivitás növelése, a humán megbetegedéseket okozó vírustörzsek azonosítása, illetve a referencialaboratórium törzsközpontjának megújítása iránti igényből adódóan vált aktuálissá a víruskimutatásra irányuló molekuláris biológiai módszerek fejlesztése és bevezetése a diagnosztikai rutinba. Emellett, a virológiai tárgyú

kutatások fontos részét képezik a *surveillance* vizsgálatok is, melyek lehetővé teszik az adott területen zajló arbovírus cirkuláció feltérképezését. Mindez nélkülözhetetlen a megfelelő közegészségügyi intézkedések megtételéhez. A téma időszerűségét jelzi, hogy a Nemzeti Népegészségügyi Központban működő Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratórium (NRL), a 18/1998. (VI. 3.) NM rendelet értelmében országos szinten felel a virális zoonózisok okozta humán fertőzések laboratóriumi diagnosztikájáért. Ezért a nemzetközi trendek követése és a módszerek folyamatos fejlesztése, valamint *surveillance* vizsgálatok megszervezése alapvető feladata.

A doktori munka célkitűzései

1. A TBEV és WNV specifikus PCR vizsgálatok fejlesztése és bevezetése a referencialaboratórium diagnosztikai módszertanába.

PCR vizsgálatok tervezését és optimalizálását követően, a szerológiai vizsgálatok alapján aktuálisan WNV vagy TBEV fertőzött betegek különböző mintatípusait (vérsavó, liquor, vizelet) vizsgálatuk PCR módszerrel. Célunk annak megállapítása volt, hogy mely mintatípus alkalmas leginkább PCR diagnosztikai vizsgálatokhoz. A PCR pozitív mintákat szekvenáltuk, majd szubtípus és/vagy lineage meghatározást végeztünk filogenetikai módszerekkel.

Továbbá, célunk volt vírusizolálás elvégzése is a PCR pozitív betegek mintáiból.

2. Nyomon követéses vizsgálatok szervezésével célunk volt a WNV PCR pozitivitás hosszának meghatározása, kórházi kezelésre szoruló, aktuálisan WNV fertőzésben szenvedő páciensek vizeletmintáiban. A PCR pozitív vizeletmintákból vírusizolálást végeztünk.

3. A víruskimutatás érzékenységének növelése érdekében célunk volt a vizeletminták mellett az **alvadásgátolt teljes vérminták WNV PCR** vizsgálatának bevezetése és a két mintatípus vizsgálatával kapott eredmények összehasonlítása.

4. Továbbá, **Usutu vírus (USUV) specifikus PCR és szerológiai módszerek bevezetésével** kívántuk bővíteni a differenciáldiagnosztikai kapacitást, melyhez 2018-ban aktuálisan vagy közelmúltban WNV fertőzésen átesett betegek mintáinak retrospektív vizsgálatát végeztük el.

5. **Végezetül, a WNV szeroprevalencia meghatározása érdekében** egészséges véradók szerológiai vizsgálatát végeztük el. Mivel a magyarországi humán populációban aktuális WNV szeroprevalencia adatok nem ismertek, a doktori munka 5. célkitűzése 2112 egészséges véradó szerológiai szűrése volt, az anti-WNV IgG szeropozitivitás arányának megállapítása érdekében. A vizsgálat az Országos Vérellátó Szolgálat (OVSZ) Konfirmáló Laboratóriuma és az NNK Virális Zoonózisok NRL közötti szakmai együttműködés keretében történt.

Anyagok és módszerek

Molekuláris biológiai vizsgálatok:

- 1.** A WNV, USUV és TBEV specifikus PCR vizsgálatokat vérsavó, alvadásgátolt teljes vér, liquor, valamint vizeletmintákon végeztük el, olyan betegeknél, akiknél szerológiai módszerekkel aktuális vagy közelmúltban zajlott WNV, vagy TBEV fertőzést állapítottunk meg. A beérkező klinikai mintákból legalább egy nukleinsav kivonásra elegendő mennyiséget fagyasztottunk (-80°C) a minta laboratóriumba érkezésének napján.
- 2.** A vizsgálatokhoz reverz-transzkripció real-time és nested PCR módszereket optimalizáltunk, korábban már publikált és saját tervezésű primerek segítségével.
- 3.** A PCR pozitív mintákból Sanger-féle láncterminációs szekvenálást végeztünk, egy minta esetén pedig a teljes genom szekvenálása is megtörtént. Filogenetikai módszerekkel elvégeztük a szekvenciák elemzését.

4. A PCR pozitív mintákból vírusizolálást végeztünk, sejtenyészeten történő szaporítással és szopós egérbe történő oltással. A vírusizolálás sikerességét real-time PCR módszerrel ellenőriztük.

Szerológiai vizsgálati módszerek:

1. Az aktuális vagy közelmúltban zajlott fertőzések laboratóriumi diagnosztikájához vírus specifikus IgM, IgA és IgG ellenanyagvizsgálatot végeztünk, vérsavó és liquor mintákból. Ehhez indirekt immunfluoreszcens (IIF) és ELISA módszert alkalmaztunk. Az IIF vizsgálatokhoz házilag előállított antigén preparátumot használtunk.
2. A megerősítő vizsgálatokat kezdetben haemagglutinációgátlási (HAG), majd vírusneutralizációs próbával végeztük. A WNV mikroneutralizációs próba alkalmazásának bevezetése szintén a doktori munka részét képezte.
3. Az egészséges véradók anti-WNV IgG szűrővizsgálatát IIF módszerrel végeztük. A szerológiai keresztreaktivitás kizárása és az IIF eredmények megerősítés céljából HAG, majd WNV mikroneutralizációs próbával is vizsgáltuk az IIF

szűrésben reaktív mintákat. A vizsgálatokhoz 2112 plazmamintát használtunk fel. A mintákat az OVSZ Konfirmáló Laboratóriuma anonimizálva bocsátotta rendelkezésünkre.

Eredmények

A Nemzeti Népegészségügyi Központ Virális Zoonózisok Nemzeti Referencialaboratóriumában molekuláris biológiai diagnosztikai módszerek bevezetésével bővítettük a flavivírus fertőzések addig kizárólag szerológiai módszereken alapuló laboratóriumi diagnosztikáját.

1. Ennek eredményeképpen 2014-ben Magyarországon először mutattunk ki nyugat-nílusi vírust közvetlenül humán klinikai mintákból, három neuroinvazív WNV infekcióban szenvedő beteg esetén. Mindhárom beteg vizeletmintája PCR pozitív eredményt adott, emellett két páciensnél a vérsavó mintából is detektáltuk a vírus nukleinsavát, habár rövidebb ideig és alacsonyabb koncentrációban. A szekvenciameghatározás során mindhárom beteg mintájában lineage 2 WNV jelenlétét azonosítottuk, egy beteg esetén teljes genom meghatározást is végeztünk.

A 2014-es év fontos tapasztalata, hogy akut fertőzöttek vizeletmintáiból nagyobb valószínűséggel mutatható ki a vírus, mint vérsavó vagy liquor mintából. Három éves időszak alatt (2015 és 2017 között) 93 aktuális WNV fertőzött beteg mintáját vizsgáltuk PCR módszerrel, összehasonlítva a vérsavó, liquor és vizeletmintákat. A vírus nukleinsava legnagyobb arányban **vizeletmintából** volt kimutatható: 77 betegről vizsgáltunk n=117 mintát. A **betegek 45,45%-ánál (a vizsgált minták 57,26%-ánál)** volt detektálható a vírus RNS-e. Ezzel szemben **vérsavó mintából a vizsgált betegek (n=83) 16,86%-ánál** tudtuk kimutatni a vírust, ami **a vizsgált minták (n=87) 18,39%-a**. Legkisebb valószínűséggel **liquor** mintából volt detektálható a vírus, 49 beteg; n=49 mintájából csupán **két beteg n=2** liquor mintája bizonyult PCR pozitívnak, a detektálhatósági határon (Ct>40,00).

Vizeletminták esetén a tünetek kezdetétől számított 6. és 10. nap között a vizsgált minták 75%-a adott PCR pozitív eredményt, a 11. és 15. nap, illetve 16. és 20. nap között vett mintáknak pedig 63 és 78%-ából volt kimutatható a vírus. A vizsgált vizeletminták 38%-a még a betegség kezdete utáni 31. és 40. napok között is PCR pozitívnak bizonyult. Ezzel szemben vérsavóból a tünetek kezdete utáni 16. naptól egy minta esetén sem tudtuk kimutatni a

vírus nukleinsavát, illetve a korai mintavétellel érkező mintákból is 30% alattinak bizonyult a PCR pozitivitás aránya.

A víruskimutatásra irányuló vizsgálatokat **kullancsencephalitis-vírusfertőzéssel** diagnosztizált betegek esetén is elvégeztük: 2016 és 2017 között 30 beteg n=84 mintáját (33 vérsavó, 6 teljes vér, 22 liquor, 23 vizelet) vizsgáltuk TBEV real-time PCR módszerrel. Összesen négy betegnél volt sikeres a víruskimutatás: két beteg vérsavó, egy beteg vizelet, és egy beteg liquor mintájából. Valamennyi mintában európai szubtípusú TBEV-t azonosítottunk. Magyarországon először mutattunk ki kullancsencephalitis-vírust közvetlenül humán klinikai mintából.

2. 2015-ben öt hosszú ideig kórházi ellátásra szoruló WNV neuroinvaszív tünetegyüttesben (WNND) szenvedő páciens esetén végeztünk nyomon követéses vizsgálatokat, elsősorban vizeletminták gyűjtésére fókuszálva. Megállapítottuk, hogy vizeletmintából akár hetekkel: 23; 24; 27; 36; és 40 nappal a tünetek kezdete után is kimutatható a WNV RNS-e. Két páciensnél a vizeletből a vírus izolálása is sikeres volt.

3. A 2018-as WNV szezonális időszak Európa-szerte kiemelkedőnek számított: a bejelentett humán esetek számában több, mint hétszeres emelkedést tapasztalhattunk az előző évhez képest. Magyarországon 225 humán megbetegedést diagnosztizáltunk, amely szám meghaladta a megelőző 14 év összes bejelentett esetszámát. A megemelkedett esetszám lehetővé tette további mintatípusok diagnosztikai vizsgálatát és összehasonlítását. 2018-ban a vérsavó minták mellett megkezdtük az alvadásgátolt teljes vérminták gyűjtését és WNV real-time PCR vizsgálatát. A PCR pozitív betegek (n=53) **45,3%-ánál a vizelet és teljes vérminta** is PCR pozitívnak bizonyult, míg **vizelet negatív és teljes vér PCR pozitív eredményt a betegek 18,9%-ánál** kaptunk. **Vizeletminta nem érkezett, azonban teljes vér PCR pozitívítás** alapján aktuális WNV fertőzést konfirmáltunk a PCR pozitív betegek **9,4%-ánál**. **Teljes vérminta nem érkezett, de vizelet PCR pozitív** eredményt kaptunk **15,1%-nál**, míg **teljes vér PCR negatív eredmény mellett a vizeletből kimutatható volt** a vírus a betegek **5,7%-ánál**. Összességében a vizeletminták mellett a teljes vérminták vizsgálata jelentősen növelte a WNV fertőzések laboratóriumi diagnosztikájának szenzitivitását, illetve a vérmintából

történő direkt víruskimutatás az Európai Unió által elfogadott laboratóriumi esetminősítéseknek megfelelően az esetkonfirmálást is lehetővé tette.

A PCR pozitív minták szekvenálásával lineage 2 WNV cirkulációt állapítottunk meg.

4. Differenciáldiagnosztikai céllal az **USUV specifikus PCR és szerológiai vizsgálatokat** is bevezettük, melynek eredményeképpen egyetlen beteg teljes vérmintájából USUV RNS-t mutattunk ki. Az esetet – a beteg korábbi WNV szerológiai vizsgálati eredményei alapján – *valószínűsített aktuális WNV infekcióként* jelentettük. A téves diagnózist a két vírus (WNV és USUV) antigén szerkezetbeli rokonsága és az ebből adódó szerológiai keresztreaktivitás okozta. A beteg PCR pozitív mintájának szekvenálásával Európa lineage 2 Usutu vírust mutattunk ki. Ezzel Magyarországon először igazoltunk humán USUV fertőzést. A neurológiai érintettséggel járó megbetegedés felhívja a figyelmet az USUV irányában végzett differenciáldiagnosztikai vizsgálatok szükségességére, különös tekintettel a serosus meningitis vagy virális encephalitis klinikai diagnózissal laboratóriumi vizsgálatra küldött minták esetén.

5. Vizsgálataink utolsó aspektusa a **WNV szeroprevalencia** felmérése volt véradók körében, melyhez 2112, 2016-ban gyűjtött vérplazma mintát vizsgáltunk. A szerológiai vizsgálatok eredményeképpen megállapítottuk, hogy az anti-WNV IgG szeroprevalencia 2,19%, a legérintettebb régiók: a dél-dunántúli, a dél-alföldi, majd ezt követően az észak-alföldi, valamint közép-magyarországi régiók.

Megbeszélés

Vizsgálataink öt éves időtartama alatt Magyarországon először mutattunk ki nyugat-nílusi és kullancsencephalitis vírust, közvetlenül humán betegmintából, WNV esetén pedig vírusizolálást is sikeresen végeztünk. Megállapítottuk, hogy PCR vizsgálatokhoz WNV fertőzött betegeknél az egyik legoptimálisabb mintatípus a vizeletminta. A vírus emellett vizeletmintákban magasabb koncentrációban volt kimutatható, a vírusizolálást 11 betegnél, kivétel nélkül vizeletmintából tudtuk elvégezni, mind kísérleti állat oltását, mind pedig fogékony sejtenyésztésre történő oltást követően.

Vagyis e mintatípus hozzájárul a PCR vizsgálatok sikerességéhez, valamint a referencialaboratóriumok törzsközpontjának fenntartásához. Öt hosszú ideig kórházi ápolásra szoruló WNND betegnél végzett nyomon követéses vizsgálatok eredménye, hogy vizeletmintákból hosszabb ideig ürülhet a vírus, akár több héttel a tünetek megjelenését követően is. Ugyanakkor, a vírusürítés mértéke és időtartama korrelálhat a kórlefolyás súlyosságával. Vizsgálatainkat limitálta, hogy a sorozatos mintagyűjtés a hosszabb ideig kórházi

ápolásra szoruló, tehát súlyosabb kórlefyással jellemezhető betegekre korlátozódott.

A vizeletminták vizsgálata önmagában nem teszi lehetővé a WNV laboratóriumi esetkonfirmálást, ahhoz szükséges a vírust vér vagy liquor mintából is kimutatni. Problémát jelent azonban, hogy vérsavó és liquor mintákból kis valószínűséggel detektálható vagy izolálható a WNV. 2018-ban a vizeletminták mellett megkezdjük az alvadásgátolt teljes vérminták gyűjtését és WNV PCR vizsgálatát. Bár alvadásgátolt teljes vér a betegek csupán 48%-ától, vizeletminta pedig csak 64%-tól érkezett, a két mintatípus és különösen a teljes vérminták PCR vizsgálata jelentősen növelte a diagnosztikai érzékenységet. A PCR pozitív betegek (n=53) 74%-ánál (n=39) tette lehetővé az esetkonfirmálását a teljes vérminta PCR pozitív eredménye. Ugyanazon beteg vérsavó és teljes vér mintájának összehasonlításakor pedig 78,0%-ban (n=32) adott a teljes vér PCR pozitív eredményt, míg a vérsavóból nem volt kimutatható a WNV RNS-e.

A humán TBEV fertőzések esetén a víruskimutatás sikeressége ugyanakkor véletlenszerűnek bizonyult a különböző mintatípusokból. A PCR pozitív betegek kis száma miatt a TBEV fertőzések laboratóriumi

diagnosztikájában továbbra is a szerológiai módszerek alkalmazása irányadó.

A PCR vizsgálatok bevezetésének egyik fontos differenciáldiagnosztikai aspektusa a 2018-ban Magyarországon először diagnosztizált humán Usutu vírusfertőzés. Bár az USUV humán kóroki szerepe kérdéses, a szerológiai keresztreaktivitás kizárása miatt nem hagyható figyelmen kívül a WNV fertőzések laboratóriumi kivizsgálásakor. E szemlélet hiányában az USUV fertőzések WNV infekcióként könnyen félre diagnosztizálhatók. Az utóbbi évek európai eseteirásai, illetve az első hazai igazolt fertőzés is rávilágít arra, hogy e zoonotikus ágenssel is számolhatunk, mint potenciális humán patogénnel. A WNV és USUV földrajzi elterjedése átfed, a vektor és gazdaszervezetek azonosak, a humán fertőzések pedig pusztán tünetek alapján, klinikailag nem különíthetők el.

A klinikai mintákból végzett víruskimutatás, majd az ezt követő szekvenálás filogenetikai vizsgálatokat is lehetővé tesz, melynek jelentősége volt a 2018-as WNV járvány okainak feltárásában is. A korábbi évek szekvencia adataival végzett összehasonlítás arra utal, hogy a 2018-as WNV járványt a térségben egyébként is cirkuláló lineage 2 vírustörzsek okozták és nem esetlegesen új,

virulensebb variáns (vagy variánsok) megjelenése. Jelen tudásunk szerint sokkal valószínűbb, hogy klimatikus és környezeti paraméterekkel magyarázható a 2018-as évi kiugrás. A hőmérséklet és csapadékeloszlás változása kedvezhetett a vírus enzootikus ciklusának: a kora tavaszi időszakban hirtelen bekövetkező hőmérséklet emelkedés és megnövekedett csapadékmennyiség a vektor populációk gyors növekedését eredményezte. Az ezt követő szárazság pedig a vírus transzmissziójának kedvezhetett.

Végezetül a diagnosztikai fejlesztéseken túl fontos említést tenni a WNV szeroprevalencia felméréséről is, melyet 2016-ban gyűjtött 2112 véradó mintáján végeztünk el. A szűrés eredményeképpen 2,19%-os (95% CI: 1,64% - 2,90%) szeroprevalenciát állapítottunk meg. A vizsgálat időszerűnek bizonyult, hiszen 2004-óta – amióta a laboratóriumiilag igazolt humán WNV megbetegedésekről rendelkezésre állnak hivatalos adatok – az éves esetszámok növekedése figyelhető meg. Az Országos Epidemiológiai Központ (a Nemzeti Népegészségügyi Központ jogelődje) utoljára 1999/2000 között végzett országos szintű szeroepidemiológiai szűrővizsgálatokat. Az ekkor gyűjtött minták egy részéből retrospektíve végeztek WNV szeroprevalencia vizsgálatot

is. A vizsgálatot a Virális Zoonózisok NRL akkori munkatársai végezték, az eredményeket nem publikálták. A szűrővizsgálathoz alkalmazott laboratóriumi módszerek az akkori és az általunk elvégzett vizsgálatban megegyeztek. Az 1999 és 2000 között gyűjtött mintákban a WNV szeroprevalencia 0,61% (95% CI: 0,00% - 1,2%) volt. Megállapítható tehát, hogy azóta a WNV szeroprevalencia szignifikánsan nőtt ($p=0,001$). A kapott eredmény korrelál a laboratóriumi igazolt esetek éves eloszlásában megfigyelhető növekvő tendenciával. Az egyes statisztikai régiókra vonatkozó kumulatív incidencia és szeroprevalencia adatokat összehasonlítva csak a dél-dunántúli régió esetén tapasztaltunk eltérést, mely a szeroprevalencia adatok alapján jóval érintettebb lehet.

Új tudományos eredmények

1. Magyarországon először mutattunk ki nyugat-nílusi vírust humán klinikai mintákból (vérsavó, teljes vér, liquor, vizelet) és izoláltuk a vírust vizeletből.
2. Magyarországon először végeztünk WNV teljes genom szekvenálást humán mintából, megállapítottuk, hogy a hazai humán WNV fertőzéseket lineage 2 vírustörzsek okozzák.
3. Nyomon követéses vizsgálatok során megállapítottuk, hogy WNND páciensek vizeletmintáiból akár hetekkel a tünetek kezdete után is kimutatható a WNV RNS-e.
4. Egészséges véradók vizsgálatával megállapítottuk, hogy 1999/2000 és 2016 között szignifikánsan nőtt a WNV szeroprevalencia, és a legérintettebb régiók a dél-dunántúli, dél-alföldi, majd ezt követően az észak-alföldi, valamint közép-magyarországi régiók.
5. Magyarországon először igazoltunk humán USUV fertőzést, és először mutattuk ki a kullancsencephalitis-vírus RNS-ét humán betegmintákból (vérsavó, vizelet, liquor).

Az értekezés témájában született publikációk

Referált külföldi vagy hazai folyóiratban megjelent közlemények:

1. **Anna Nagy**, Enikő Bán, Orsolya Nagy, Ferenczi Emőke, Ágnes Farkas, Krisztián Bányai, Szilvia Farkas, Mária Takács. (2016). **Detection and sequencing of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period.** Arch Virol., 161, 1797–1806.
<https://doi.org/10.1007/s00705-016-2844-5>
2. **Anna Nagy**, Orsolya Nagy, Enikő Bán, Eszter Molnár, Zsófia Müller, Márton Orbán, Borbála Kecskés, Emese Henriett Harsányi, Levente Kővágó, Lajos Jobbágy, Zoltán Németh, Zsuzsanna Várnai, Mária Takács. (2017). **A nyugat-nílusi vírus kimutatása humán betegmintákból: nyomon követéses vizsgálatok a 2015. évi szezonális időszakban.** Orv Hetil., 158(20), 791–796.
<https://doi.org/10.1556/650.2017.30760>
3. **Anna Nagy**, Orsolya Nagy, Katalin Tarcsai, Ágnes Farkas, Mária Takács. (2018). **First detection of tick-borne encephalitis virus RNA in clinical specimens of acutely ill patients in Hungary.** Ticks Tick Borne Dis., (9)3, 485–489.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.12.017>

4. **Anna Nagy**, Tímea Szöllősi, Mária Takács, Nóra Magyar, Éva Barabás. (2019). **West Nile Virus Seroprevalence Among Blood Donors in Hungary**. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, (19)11, 1–7. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2401>
5. **Anna Nagy**, Eszter Mezei, Orsolya Nagy, Tamás Bakonyi, Nikolett Csonka, Magdolna Kaposi, Anita Koroknai, Katalin Szomor, Zita Rigó, Zsuzsanna Molnár, Ágnes Dánielisz, Mária Takács. (2019). **Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018**. *Euro Surveill.*, (24)28, 1–9. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.28.1900038>

Könyvfejezetek, jegyzetek:

1. András Lakos, Enikő Bán, Ferenc Schneider, **Anna Nagy**, Eszter Mezei. (2019). **TBE in Hungary**. In Gerhard Dobler, Wilhelm Erber, Michael Bröker, & Heinz-Josef Schmit (Eds), *The TBE Book (2nd Edition)*. Singapore: Global Health Press Pte Ltd.

Kongresszusi kiadványok:

1. **Nagy, Anna**, Enikő Bán, Orsolya Nagy, Emőke Ferenczi, Ágnes Farkas, Krisztián Bányai, Szilvia Farkas, Mária Takács. (2015). **“Detection of West Nile virus RNA from human urine and serum samples during the 2014 seasonal period.”** In *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, (62)1,187.

2. **Nagy, Anna**, Enikő Bán, Eszter Molnár, Emőke Ferenczi, Ágnes Farkas, Krisztián Bányai, Szilvia Farkas, et al. (2016). **“Nyugat-Nílushi vírus kimutatása humán vizelet mintákból: a 2014-2015. évi szezonális időszak tapasztalatai.”** In A Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 44. Kongresszusa, 22.
3. **Nagy, Anna**, Orsolya Nagy, Katalin Tarcsai, Ágnes Farkas, Mária Takács. (2017). **“First detection of tick-borne encephalitis virus in clinical specimens of acutely ill patients in Hungary.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (64)1, 151–152.
4. **Nagy, Anna**, Eszter Mezei, Orsolya Nagy, Tamás Bakonyi, Nikolett Csonka, Magdolna Kaposi, Anita Koroknai, et al. (2019). **“Extraordinary increase in the number of West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (66)1, 168–169.
5. **Nagy, Anna**, Orsolya Nagy, Anita Koroknai, Nikolett Csonka, Anett Mária Dömötör, and Mária Takács. (2019). **“Kihívások és buktatók - A Nyugat-Nílushi vírusfertőzések laboratóriumi diagnosztikájának új eredményei.”** In Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 47. Kongresszusa, 31.
6. Csonka, Nikolett, **Anna Nagy**, Orsolya Nagy, Anita Koroknai, and Mária Takács. (2019). **“Usutu vírus irányában végzett diagnosztikai vizsgálatok: új tapasztalatok a *Flavivirus* diagnosztikában.”** In Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 47. Kongresszusa, 53.

7. **Nagy, Anna**, Eszter Mezei, Orsolya Nagy, Anita Koroknai, Katalin Szomor, Zita Rigó, Nikolett Csonka, Magdolna Kaposi, and Mária Takács. (2019). **“Extraordinary increase in the number of human West Nile virus infections - Conclusion of the laboratory experiences.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (66)1, 67–68.
8. **One-Health European Joint Programme – 1st Annual Scientific Meeting**. 2019. május 22-24. Dublin, Írország. **Oral presentation:** Anna Nagy, Eszter Mezei, Orsolya Nagy, Tamás Bakonyi, Nikolett Csonka, Magdolna Kaposi, Anita Koroknai, Katalin Szomor, Zita Rigó, Zsuzsanna Molnár, Ágnes Danielisz, Mária Takács. (2019). **„Extraordinary increase in the number of West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018.”** In 1st Annual Scientific Meeting of the One Health European Joint Programme on Foodborne Zoonoses, Antimicrobial Resistance and Emerging Threats, 58.

Egyéb lektorált publikációk

Referált külföldi vagy hazai folyóiratban megjelent közlemények:

1. Márton Koch, Katalin Tímea Török, Ferenc Nagy, Viktor Soós, Éva Pozsgai, Zsuzsanna Lelovics, **Anna Nagy**, Csaba Varga. (2019). **A nyugat-nílusi vírus okozta neuroinvaszív tünetegyüttes előfordulása sürgősségi osztályon.** Orv Hetil., (160)51, 2026–2035. <https://doi.org/10.1556/650.2019.31575>

2. Orsolya Nagy, **Anna Nagy**, Szilvia Tóth, Bernadett Pályi, Anita Vargáné Koroknai, Mária Takács. (2019). **Imported Zika virus infections in Hungary between 2016 and 2018.** Acta Microbiol Immunol Hung., (66)4, 423–442. <https://doi.org/10.1556/030.66.2019.025>
3. Brigitta Zana, Károly Erdélyi, **Anna Nagy**, Eszter Mezei, Orsolya Nagy, Mária Takács, Tamás Bakonyi, Petra Forgách, Orsolya Korbacska-Kutasi, Orsolya Fehér, Péter Malik, Krisztina Ursu, Péter Kertész, Anett Kepner, Máté Martina, Tamás Süli, Zsófia Lanszki, Gábor Endre Tóth, Anett Kuczmog, Balázs Somogyi, Ferenc Jakab, Gábor Kemenesi. (2020). **Multi-Approach Investigation Regarding the West Nile Virus Situation in Hungary, 2018.** Viruses., (12)1, 1–12. <https://doi.org/10.3390/v12010123>
4. Orsolya Fehér, Tamás Bakonyi, Mónika Barna, **Anna Nagy**, Mária Takács, Ottó Szenci, Kinga Joó, Sára Sárdi, Orsolya Korbacska-Kutasi. (2020). **Serum neutralising antibody titres against a lineage 2 neuroinvasive West Nile Virus strain in response to vaccination with an inactivated lineage 1 vaccine in a European endemic area.** Vet Immunol Immunopathol., 227, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2020.110087>
5. Orsolya Kutasi, Orsolya Fehér, Sára Sárdi, Nándor Balogh, **Anna Nagy**, Leticia Moravszki, Emese Bódai, Ottó Szenci. (2020). **Characterisation of the cerebrospinal fluid of horses with West Nile virus neuroinvasive disease.** Acta Vet Hung., (68)2, 177–185. <https://doi.org/10.1556/004.2020.00022>

6. Nóra Magyar, Zoltán Kis, Éva Barabás, **Anna Nagy**, Judit Henczkó, Ivelina Damjanova, Mária Takács, Bernadett Pályi. (2020). **New geographical area on the map of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus: First serological evidence in the Hungarian population.** Ticks Tick Borne Dis., (12)1, 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101555>
7. Márton Koch, Éva Pozsgai, Viktor Soós, **Anna Nagy**, János Girán, Norbert Nyisztor, Tibor Martyn, Zsófia Müller, Melánia Fehér, Edit Hajdú, Csaba Varga. (2021). **Identifying risks for severity of neurological symptoms in Hungarian West Nile virus patients.** BMC Infect Dis., (21)65, 1–13.
<https://doi.org/10.1186/s12879-020-05760-7>

Kongresszusi kiadványok:

1. **Nagy, Anna**, Marina Varga, Mária Takács, Katalin N Szomor. (2013). **“Retrospective study for screening Usutu virus antibodies in two different groups of human population in Hungary.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (60)1, 191–192.
2. Nagy, Orsolya, Enikő Bán, Emőke Ferenczi, **Anna Nagy**, Zita Rigó, Katalin N Szomor, Mária Takács. (2015). **“Antibody dependent enhancement of infectivity in human flavivirus infections.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (62)1,72.
3. **Nagy, Anna**, Orsolya Nagy, Enikő Bán, Emőke Ferenczi, Zita Rigó, Katalin Némethné Szomor, Mária Takács. (2015). **“Examination of serologically confirmed human hantavirus infections in Hungary: conclusions of laboratory diagnostics.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (62)1, 68.

4. Nagy, Orsolya, **Anna Nagy**, Enikő Bán, Emőke Ferenczi, István Jankovics, Mária Takács. (2017). **“Results and conclusions of Zika virus diagnostics during the 2016 Summer Olympic Games.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (64)1, 63–64.
5. Nyisztor, Norbert, Tivadar Bányai, Tibor Martyn, Piroska Lakatos, Réka Pocsay, Ábel Seres, Mária Takács, **Anna Nagy**. (2019). **“Nyugat-Nílusi láz Békés megyében, 2018-ban.”** In Magyar Infektológiai És Klinikai Mikrobiológiai Társaság 47. Kongresszusa, 53.
6. Nagy, Orsolya, **Anna Nagy**, Anita Koroknai, Nikolett Csonka, and Mária Takács. (2019). **“Importált Dengue-, Chikungunya és Zika-vírus fertőzések Magyarországon 2016-2019 között.”** In Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 47. Kongresszusa, 49.
7. Nagy, Orsolya, **Anna Nagy**, and Mária Takács. (2019). **“Role of serological cross-reaction and cross-neutralization in the diagnosis of *Flavivirus* infections.”** In Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, (66)1, 71–71.
8. Koroknai, Anita, Orsolya Nagy, **Anna Nagy**, Nikolett Csonka, Mária Takács. (2019). **“Rágcsálók által terjesztett virális zoonózisok előfordulása és diagnosztikája Magyarországon 2012-2019 között.”** In Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 47. Kongresszusa, 30.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek: Dr Takács Máriának, aki segítette munkámat és aki lehetővé tette, hogy ezzel az izgalmas témával foglalkozhassak.

Köszönet illeti a Virális Zoonózisok NRL egykori és jelenlegi dolgozóit: Dr Nagy Orsolyát, Vargáné Dr Koroknai Anitát, Csonka Nikolettet és Kaposi Tamásné, akik mindvégig támogatták munkámat.

Némethné Dr. Szomor Katalinnak szeretném megköszönni az egyetemi tanulmányaim óta nyújtott szakmai támogatását.

Mezei Eszter epidemiológus kollégáknak hálás vagyok segítőkészségéért.

Az NNK Virologiai Laboratóriumi Osztálya valamennyi munkatársának köszönöm, hogy mindig kérhettem segítséget.

Köszönet illeti az MTA Agrártudományi Kutatóközpont – Állatorvos-tudományi Intézet munkatásait: Dr Bányai Krisztiánt és Dr Farkas Szilviát, továbbá az OVSZ Konfirmáló Laboratóriumának vezetőjét Dr Barabás Évát. Köszönöm, hogy az Állatorvostudományi Egyetem; Állatorvostudományi Doktori Iskola hallgatójaként

végezhettem tanulmányaimat. Az oktatási tevékenységben nyújtott támogatásért köszönettel tartozom a Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék jelenlegi (és korábbi) munkatársainak: Dr Forgách Petrának, Dr Marosi Andrásnak, Hofbauer Gyöngyinek és Bakonyi Győzőnek. Továbbá, szeretném megköszönni Dr Bakonyi Tamás professzornak, hogy szakmai javaslataival segítette munkámat.

Végül pedig köszönöm a családomnak, hogy támogatásukkal segítették, hogy minél több időt fordíthassak munkámra.