

Orvos- és Egészségtudomány

		Orvostudomány I. Transzlációs medicina	Orvostudomány Interdiszciplináris I.
	Szekcióelnök:	Dr. Jakus Zoltán Péter (SE)	Prof. Dr. Kellermayer Miklós (SE)
I. panel	10.30-10.45	Demján Virág	Biancovilli, Priscila
	10.45-11.00	Erdei Tamás Dániel	Baráth Barbara
	11.00-11.15	Gyenes Dominik	Szentpéteri Szófia
	11.15-11.30	Dr. Kolostyák Zsuzsanna	Kovács Petra
	11.30-11.45	Gurbi Bianka	Simon Botond
	11.45-12.00	Ágics beatrix	Zhe, Wang
		Orvostudomány Interdiszciplináris II.	
	Szekcióelnök:	Prof. Dr. Igaz Péter (SE)	
II. panel	13.00-13.15	Barth Anita	
	13.15-13.30	Sarkady Ferenc	
	13.30-13.45	Orbán-Kálmándi Rita	
	13.45-14.00	Varga Alexandra Edit	
	14.00-14.15	Szécsényi-Nagy Balázs	
	14.15-14.30	Pónusz Róbert	
	14.30-14.45	Anna Georgina Kopasz	
		Mikrobiológia és immunológia	
	Szekcióelnök:	Dr. Ostorházi Eszter (SE)	
III. panel	15.45-16.00	Bencze Dóra	
	16.00-16.15	Jeles Krisztina	
	16.15-16.30	Katona Melinda	
	16.30-16.45	Prépost Eszter	
	16.45-17.00	Macharia John	

Mikrobiológia és immunológia

15.45-17.00

Szekciófelelős:

Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

Characterization of NLRP3 pathway in human plasmacytoid dendritic cells

BENCZE Dóra

Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Immunológiai Intézet

Orvos- és egészségtudomány (Immunológia)

bencze.dora@med.unideb.hu

Introduction: Plasmacytoid dendritic cells (pDCs) are referred to as the most powerful innate immune cells of antiviral responses due to their selective expression of viral nucleic acid sensing endosomal TLRs and their unique capability to produce high amounts of type I IFNs. Furthermore the cytosolic receptors including RIG-I-like helicases evolved for detecting virus replication are also functional in pDCs. However the activity of inflammasome-forming cytosolic receptors such as NLRP3 or their IL-1 β producing capacity that can be involved in the antibacterial defense of the cells has not been explored yet.

Aims: In this study we aimed at characterizing the NLRP3 activity in pDCs which could influence the outcome of pDC-mediated immune responses.

Methods: Human pDCs were stimulated with various cell surface or endosomal TLR ligands, NLRP3 activators or live pathogenic and non-pathogenic bacteria then the expression and activity of NLRP3 pathway components were detected by Q-PCR at the mRNA level, and western blotting or ELISA at the protein level.

Results: We found that pDCs express the essential components of the NLRP3 pathway and produce pro-IL-1 β upon challenges with TLR ligands or live bacteria. Interestingly, pDCs are able to release the mature form of IL-1 β in response to the potassium ionophore nigericin but not to ATP that might be explained by the poor expression of P2X7 purinergic ATP receptors in pDCs. We also observed that pathogenic bacteria have greater capacity to induce NLRP3 activation in these cells in contrast to the commensal ones. Moreover specific inhibition of NLRP3 abolished IL-1 β secretion indicating that IL-1 β is produced in an NLRP3-dependent manner in pDCs.

Conclusion: Here we demonstrated for the first time that beside their strong antiviral properties pDCs can form active NLRP3 inflammasomes and can be involved in the IL-1-mediated pro-inflammatory responses as well.

Funding: NKFIH FK 128294 and GINOP-2.3.2-15- 2016-00050 projects, UNKP-19-3, UNKP-19-4 New National Excellence Program of the Ministry for Innovation and Technology managed by the National Research, Development and Innovation Office and the János Bolyai Research Scholarship from the Hungarian Academy of Sciences.

Mikrobiológia és immunológia

15.45-17.00

Szekciófelelős:

Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

Új humán polyomavírusok DNS prevalencia vizsgálata

JELES Krisztina

Debreceni Egyetem / ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Orvos- és egészségtudományok

jeleskrisztina1@gmail.com

A *Polyomaviridae* család az elmúlt években 11 új, humánpatogén taggal bővült. Az új vírusok közül a tumorkeltő Merkel sejt polyomavírus, illetve a Trichodysplasia spinulosa-asszociált polyomavírus köthető egyértelműen betegséghez. Bár a vizsgálatok a többi vírussal kapcsolatban is megindultak, egyesek esetén még az is kérdéses, valóban humánpatogén vírusoknak tekinthetőek-e. Emberből, klinikai mintából izolált virionnal nem rendelkezünk, így a vírusokkal kapcsolatos vizsgálatokat molekuláris biológiai módszerekkel végezhetjük. A vírusok patogenezisének megismerése elengedhetetlen ahhoz, hogy a vírusok jelentőségét meg tudjuk ítélni. A DNS prevalencia vizsgálatok, azaz a különféle klinikai mintákban a virális nukleinsav keresése, kimutatása segíthet megválaszolni, hogy milyen korú, milyen immunstátuszú személyek fertőződnek meg a vírussal, mi lehet a szervezetbe behatolási kapu, hol szaporodnak a vírusok, látenciát alakítanak-e ki, terjednek-e és hogyan a szervezeten belül, illetve okoznak-e tüneteket.

Munkacsoportunk különféle klinikai mintákban vizsgálta már több, új polyomavírus jelenlétét, így saját és mások által publikáltak alapján is felmerült a vírusok légúti terjedésének lehetősége. A feltételezhető légúti terjedés miatt légúti és középfül váladékban, orr- és garatmandula szövetekben vizsgáljuk a vírusok jelenlétét. Tanulmányozzuk, hogy szaporodnak-e a vírusok, esetleg perzisztens fertőzés alakul-e ki. Más, régóta ismert polyomavírusok (BK, JC) nem kódoló, szabályozó régiójának szekvencia varianciája, sőt annak közvetlen klinikai következménye jól ismert: bizonyos mutációk látens fertőzés fenntartását, míg mások igen aktív vírusszaporodást és súlyos klinikai tüneteket eredményeznek. Mindemellett valamennyi polyomavírus rendelkezik tumorkeltő potenciállal - sőt, már humán tumorvírust is leírtak -, amiben a vírusreplikációt szabályozó régió mutációinak is szerepe lehet. Célunk a mintákban detektált vírusok szabályozó régiójának szekvenálása, a mutációk feltérképezése, in silico analízise, mellyel a lehetséges transzkripciós faktor és LT antigén kötőhelyeket, azok varianciáját vizsgáljuk.

Kutatómunkánkhoz megfelelő PCR módszereket, kvantitatív, real-time PCR módszereket terveztünk és optimalizáltunk. A szükséges pozitív kontrollokat vagy a felfedezőktől szereztük be vagy magunk állítottuk elő a target szekvencia DNS szintézist követő vektorba klónozásával. Klinikai mintákból nukleinsavat izoláltunk, majd humán polyomavírus (HPyV) 9, 10, 11, 12 és 13 DNS prevalencia vizsgálatot végeztünk. A virális DNS pozitív mintáinkból teljes vírus genomot és nem kódoló, kontroll régiókat szekvenáltunk és elemeztünk.

Előadásomban az alkalmazott PCR módszereket, a DNS prevalencia eredményeket, illetve a szekvencia elemzések eredményeit mutatom be. HPyV9-et garatmandulában, HPyV10-et és HPyV11-et torokváladékban és középfül váladékban, míg HPyV11-et orrmandulában is detektáltunk. Elemzésünk alapján a HPyV11 nem kódoló, kontroll régiójában a szekvencia

Mikrobiológia és immunológia

15.45-17.00

Szekciófelelős:

Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

varianciák transzkripciós faktor kötőhely varianciát is eredményezhetnek, ami hatással lehet a vírus szaporodására.

A munka támogatói: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK18, FK128533). A munka a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-19-4 (Bolyai+) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

Új humán polyomavírusok szeroprevalencia vizsgálata

KATONA Melinda

Debreceni Egyetem / ÁOK Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola

Orvos- és egészségtudományok

katona.melinda@med.unideb.hu

Új, humánpatogén vagy potenciálisan embert fertőző vírusok kizárólag szekvencia alapon történő leírása a virológia kutatásokat újabb kihívás elé állította. Izolált virion hiányában főként molekuláris biológiai technikákkal kereshetjük a válaszokat a legalapvetőbb kérdésekre.

A *Polyomaviridae* család 2007 óta jelentős számú, 11 új, humánpatogén taggal bővült a célzott szekvenciavadászatnak köszönhetően. A közel négy évtizede ismert két „régí” vírusról, a BK és JC vírusról tudjuk, hogy a populáció nagy részét megfertőzik, ám jelentős klinikai tüneteket legyengült immunrendszerűekben okozhatnak. Bár a kutatások az új vírusokkal kapcsolatban is megindultak, az érdeemi vizsgálatokból származó közlemények száma még mindig alacsony.

Kutatómunkám célja, hogy az újonnan leírt, humánpatogén vírusokkal kapcsolatosan szeroprevalencia vizsgálatot végezzünk. Arra keressük a választ, hogy mennyire elterjedtek ezek a vírusok, mutatkoznak-e földrajzi eltérések az átfertőzöttségben, milyen életkorban történhet a primer fertőzés, illetve vannak-e olyan betegcsoportok, akik esetében megnő a fertőzésre való fogékonyság. A szerológia vizsgálatokhoz olyan virális antigénre van szükségünk, melyek ellen megfelelő immunválasz alakul ki, a fertőzés lezajlása után is detektálható ellenanyag termelését indukálják. A polyomavírusok esetén ez a kapszidot nagyrészt alkotó, a virion külső felszínén elhelyezkedő VP1 fehérje. A vírus tenyésztésére nincs lehetőségünk, ezért a virális antigént fehérje expresszióval állítjuk elő. A fehérje szerkezete miatt erre a bakteriális expresszió is megfelelő, azonban a diszulfid-hidak, a kodon optimalizálás, illetve a hatékony kinyerhetőség miatt megfelelő baktériumra van szükségünk. A génbanki, VP1 fehérjét kódoló szekvenciákat kodon optimalizáltuk, a fehérje tisztítását és detektálását lehetővé tevő 6XHis taggal láttuk el, majd indukálható expressziót lehetővé tevő vektorba klónoztuk. A vektorokat XL-1 Blue baktériumban amplifikáltuk, tisztítottuk, majd szekvenáltattuk. A fehérje expresszió Origami B(DE3) baktériumokban zajlott. A fehérjék tisztítását a 6XHis tag segítségével, affinitás kromatográfiával végeztük. A fehérjék minőségét SDS-PAGE-t követő Coomassie Brilliant Blue festéssel, illetve a 6X His tag detektálásával, Western-blot módszerrel ellenőriztük. A mennyiségi meghatározás BCA assay segítségével történt. A szeroprevalencia vizsgálatához humán szérum mintákat gyűjtöttünk egészséges gyerekektől és felnőttektől, valamint immunszuppresszált betegektől. A humán vér mintákból az ellenanyagok kimutatását ELISA módszerrel végezzük. Ehhez egy indirekt ELISA módszert terveztünk és optimalizáltunk. Előadásomban a humán polyomavírus 9,

Mikrobiológia és immunológia

15.45-17.00

Szekciófelelős:

Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

10, 12 és 13 VP1 fehérjék előállítását, illetve az ezekkel az antigénekkal végzett ELISA módszer optimalizálását, valamint a vizsgálati eredményeket mutatom be.

A munka támogatói: Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (FK18, FK128533). A munka a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj és az Emberi Erőforrások Minisztériuma ÚNKP-19-4 (Bolyai+) kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának támogatásával készült.

A négy globálisan elterjedt *Candida auris* klád *in vivo* virulenciájának összehasonlító vizsgálata

PRÉPOST Eszter¹, FORGÁCS Lajos², TÓTH Zoltán³, NAGY Fruzsina⁴, BALÁZS Bence⁵, KOVÁCS Renátó⁶, KARDOS Gábor⁷, MAJOROS László⁸

Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Mikrobiológiai Intézet

Orvos és egészségtudományok, klinikai mikológia

¹prepost.eszter@unideb.hu, ²forgacs.lajos.89@gmail.com, ³toth.zoltan@med.unideb.hu,

⁴nagyfruzsina0429@gmail.com, ⁵balazsbence0903@gmail.com, ⁶kovacs.renato@med.unideb.hu,

⁷kg@med.unideb.hu, ⁸major@med.unideb.hu

A *Candida auris* 2009-es leírása óta számos országban megjelent, melyekben gyakorta kórházi járványokat okoz. Bár ismereteink egyre gyarapodnak ezzel a különleges gombafajjal kapcsolatban, az egyes *C. auris* leszármazási vonalak *in vivo* virulenciájáról emlős szervezetben kevés adattal rendelkezünk.

Kísérleteink során a jelenleg globálisan elterjedt négy *C. auris* klád izolátumainak (Dél-amerikai n=5, Dél-afrikai n=5, Dél-ázsiai n=5 és Kelet-ázsiai n=4) virulenciáját vizsgáltuk neutropénias egérmodellben. Vizsgálataink kiterjedtek az egyes izolátumok által okozott mortalitásra, az egyes izolátumok szöveti perzisztenciájára (vese, máj, lép, szív), illetve az egyes szervek hisztopatológiai vizsgálatára. Mindemellett az összehasonlíthatóság kedvéért *C. albicans* izolátumokkal (n=2) is elvégeztük a vizsgálatokat.

A *C. auris* izolátumok a kládtól függetlenül minden esetben kevésbé virulensnek bizonyultak, mint a *C. albicans* izolátumok. A legmagasabb összesített mortalitást a Dél-amerikai kládba tartozó izolátumoknál tapasztaltuk (96%, 90-100%) 21 nap után, melyet a Dél-ázsiai izolátumok 80 %-os kumulatív letalitása követett (50-100%). A Dél-afrika és Kelet-ázsiai izolátumok összesített halálozása közel azonos volt (44 % és 45%). Az egyes kládokon belül a túlélés szignifikánsan különbözött. A szöveti perzisztencia eredmények jó korrelációt mutattak a letalitási kísérletek eredményével. A legmagasabb csíraszámokat az egyes szervekben a Dél-amerikai izolátumokkal fertőzött egerekben tapasztaltuk. A szövettani vizsgálatok nagyméretű blasztoconídium és sarjadzó sejt aggregátumok jelenlétét igazolta a vesékben, a szívben és a májban, ugyanakkor a lép csak kis mértékben volt érintett. További érdekesség, hogy a szövettani vizsgálatok kontakciószalag necrosist mutattak ki mind a klinikai tüneteket nem mutató, illetve moribund állatok myocardiumában.

Eredményeink alapján leszármazási vonaltól függetlenül a legnagyobb mértékben a vesé és a szív volt érintett. Az egyes izolátumok virulenciája a kládokon belül is eltérő, azonban a Dél-amerikai izolátumok jelentősen virulensebbnek bizonyultak.

Mikrobiológia és immunológia
15.45-17.00
Szekciófelelős:
Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

Tóth Zoltánt, Balázs Bencét, Nagy Fruzsínát támogatta az Innovációs és Technológiai Minisztérium, Új Nemzeti Kiválóság Program (ÚNKP-19-3-I.)

Risk factors associated with *Staphylococcus aureus* presence in milk and milk products sold within Nairobi County, Kenya

MACHARIA John

University of Pecs

Health Sciences

johnmacharia@rocketmail.com

In Kenya, with the continuous water shortage, proper sanitary conditions are not sufficiently met and hence pre-disposing the community to *Staphylococcus aureus* infections. One of the difficulties of controlling *S. aureus* food poisoning is that food can contain a very high population of the bacteria without being noticeably identified. It has been suggested that food-borne diseases represent one of the most widespread and overwhelming public health problems in poor resource settings. The aim of this study was therefore to determine factors associated with milk and milk products contamination by *S. aureus*. A total of 334 samples were collected for analysis in the laboratories. A loop-full of each sample was streaked directly on MacConkey agar and Blood agar. Suspected isolates were subcultured in Mannitol salt agar which was used as an indicator media. Biochemical tests; Catalase test and Coagulase test were used as confirmatory tests for *S. aureus*. From all the 54 samples of raw milk analyzed, 35 (64.81%) samples were contaminated by *S. aureus*. In pasteurized milk, out of 112 samples, 23 (20.54%) samples were contaminated while in yoghurt, out of 112 samples, 12 (10.71%) samples were contaminated. In ice cream, out of 56 samples, 2 (3.57%) were contaminated. From the milk outlets selling raw milk within the study area, regular opening of the containers to sell milk pre-disposed the milk to hand contamination and consequently greater risks of contamination by environmental contaminants. Out of 120 respondents interviewed, an average of 84 (70%) claimed to be aware of the health risks associated with milk. Of the respondents, 28 (23%) claimed to be aware of diseases associated with consumption of contaminated milk. Most of them claimed to have encountered stomach disorders and diarrhea while others claimed to have experienced body rashes, severe headache and vomiting. On average, 8 (9%) of the respondents claimed to have contracted a disease as a result of drinking contaminated milk within the last one year. It was established that 118 (98%) of food handlers did not receive any formal training regarding food hygiene. Information generated from the study provides a basis upon which formulation of better policies regarding raw milk and milk products can be based on.

Keywords: Risk factors, Associated, Milk, Milk products, Sold

Mikrobiológia és immunológia
15.45-17.00
Szekciófelelős:
Gönczi Róbert, +36 70 216 2656

Mikrobiológia és immunológia
15.45-17.00
Szekciófelelős:
Gönczi Róbert, +36 70 216 2656