

## **K 125561 sz. OTKA kutatás – Záróbeszámoló**

Projekt címe: **„Tuberkulózis és evolúció”**

Kutatási időszak: **2017 – 2023**

Témavezető: **Dr. Pálfi György** SZTE Embertani Tanszék

### **A projekt témája, célkitűzései, időrendje és megvalósítása**

A **„Tuberkulózis és evolúció”** című, K 125561 NKFIH projekt a biológiai antropológia és paleopatológia kutatási módszertanára, régi emberi populációk biológiai maradványainak vizsgálatára, paleopatológiai/paleoepidemiológiai rekonstrukcióra alapuló szupraindividuális biológiai alapú kutatás. A kutatási projekt végrehajtása sokrétű hazai és nemzetközi interdiszciplináris (antropológiai, orvosi, mikrobiológiai, radiológiai, járványtörténeti, régészeti stb.) kooperációk keretében zajlott. A kutatás központi bázisa az SZTE TTIK Embertani Tanszéke és humán oszteológiai gyűjteménye, amelyet hazai (pl. SZTE Mikrobiológiai Tanszék, SZTE ÁOK, ELTE, MTM) és külföldi (pl. EURAC Bolzano - Italy; Smithsonian Institution, Washington DC – USA; University of Birmingham - UK; EPHE, CNRS, Université de Bordeaux, UPSUD - France) partner-egységek egészítettek ki. A kutatásban részt vett az SZTE Embertani Tanszék teljes kutatói/oktatói/technikusi állománya, bekapcsolódtak társult kutatói, PhD és graduális hallgatói, valamint a hazai és külföldi partnerintézményeink számos kutatója.

A kutatás főbb céljaiként a tuberkulózis evolúciójával kapcsolatos ismereteink bővítését, és a tbc paleopatológiai diagnosztikai lehetőségeit javító módszertani fejlesztéseket jelöltünk meg. A kutatócsoport ehhez az SZTE Embertani gyűjteményében, továbbá hazai és külföldi társintézményi humán oszteológiai és múmia-gyűjteményekben tervezett biológiai antropológiai és paleopatológiai vizsgálatokat. Fontos irányvonalnak tekintettük a tbc atípusos csontelváltozásainak behatóbb vizsgálatát, azok között is kiemelten az ún. endocranialis tbc-markerek pontosítását, tipizálását, diagnosztikai értékük meghatározását. A morfológiai-diagnosztikai aspektusok mellett kitértek a szerepet szánt a projekt a tbc-s nyomokat mutató paleopatológiai leletek paleomikrobiológiai vizsgálatának, a DNS-alapú vizsgálatok mellett a lipid biomarker kutatások fejlesztésének, illetve a makroszkópos morfológiai és molekuláris vizsgálati eredményeken alapuló paleoepidemiológiai rekonstrukciónak. A terveinkben szerepelt egy, a kutatás témájához kapcsolódó paleopatológiai-paleoepidemiológiai tárgyú nemzetközi konferencia megszervezése és lebonyolítása is. Projektterveink határozott szándéka volt a tudományos utánpótlás-neveléshez (PhD-fokozatszerzéshez) való kapcsolódás.

Az eredetileg 4 évre tervezett kutatás váratlan külső negatív hatások, és az azokkal összefüggő átütemezések, ill. szakmai megfontolások miatt összesen mintegy 6 év alatt került megvalósításra. A feldolgozó munkával és laboratóriumi vizsgálatokkal kapcsolatos célfeladatok jól haladtak, azok időarányos része 2019 végéig megvalósult. 2018-ban megszületett az első, 100%-ban a projekt kutatásaira épülő PhD értekezés (Spekker, 2018). A COVID-19 járvány azonban 2020 tavaszától sok nehézséget jelentett (több, mint két éven át). 2020 első felében a hazai kutatási feladataink is nehézségekbe ütköztek, a tervezett külföldi tanulmányutak megvalósítása lehetetlenné vált (ezek a problémák a legnagyobb nehézséget a nemzetközi együttműködésben folytatott paleomikrobiológiai és paleoradiológiai alprojektjeink számára jelentették). Mivel az eredetileg 2020-ra tervezett nemzetközi konferenciánkat 2021-ben sem tudtuk megrendezni, 2021-ben egy év hosszabbítást kértünk, 2022 augusztus végéig. A hosszabbítás lehetővé tette számos elmaradt külföldi helyszíni kutatás pótlását, és a harmadik, tbc-evolúciós konferenciánk, az ICEPT-3 megrendezését, ill. szegedi lebonyolítását (2022 nyarán), ld: <https://www2.bio.u-szeged.hu/icept-3/doku.php>. Az NKFIH által engedélyezett további bő egy év hosszabbítás lehetővé tette azt is, hogy a projekt eredeti célkitűzéseit és vállalásait túlteljesítve elkészüljön az ICEPT-3 konferencia anyagaira épülő nemzetközi tanulmánykötet, ami a korábbi publikációkkal együtt a projekt kiemelkedő eredményességét

fémjelzi (31 nemzetközi szakfolyóiratban publikált tanulmány és több, mint 50 nemzetközi konferencia-előadás).

## **A projekt egyes célfeladatainak megvalósítása és azok legfontosabb eredményei**

### 1) A tbc paleopatológiai diagnosztikai lehetőségeit javító módszertani fejlesztések

#### a. Morfológiai kutatások

A K 125561 projekt részjelentéseiben rendszeresen beszámoltunk az ún. atípusos szkeletális tbc-markerek, azok közül is elsősorban az endocranialis markerek validálásával kapcsolatos kutatásokról. Az elsődleges vizsgálatok a Washingtoni Természettudományi Múzeumban (Terry Anatomical Collection, Washington DC) zajlottak, az eredmények feldolgozására és kiértékelésére az SZTE Embertani Tanszékén került sor. Az atípusos csont-ízületi tbc-léziók diagnosztikai kritériumainak pontosításához, a léziók anatomo-patológiai kiértékeléséhez több mint 1000 lelet vizsgálati adatait használtuk fel. A projekt szenior kutatóinak társtémavezetésével született meg Spekter Olga kiváló, *summa cum laude* eredménnyel megvédett, teljes egészében a projekthez kapcsolódó, angol nyelvű PhD dolgozata (Spekter, 2018). A kutatás fontos eredménye, hogy négy típusú tbc-kapcsolt endocranialis elváltozás esetében statisztikai alapú specifitási szintkülönbségeket állapított meg, és amíg magasan szignifikáns tbc-kötöttséget csak az ún. granuláris impressziók (GI) esetében mutatott ki, a többi típus esetében is bizonyítást nyert, hogy azok asszociált jelentkezése esetén jó eséllyel valószínűsíthetjük az egykori tuberkulózisos megbetegedést (CNS TB). A dolgozat témájából a projekt évei alatt számos értékes metodikai jellegű publikáció jelent meg (e.g. Spekter *et al.*, 2020a-b, 2021a, 2022a). A morfológiai alapú diagnosztikai fejlesztések új eredményeinek bemutatására és megvitatására számos hazai és nemzetközi tudományos fórumon került sor.

#### b. Paleomikrobiológiai kutatások

A projekt fontos célkitűzése volt a régi tbc-s esetek diagnosztizálásához és elemzéséhez alkalmazható molekuláris technikák tökéletese, bekapcsolódás a témával kapcsolatos nemzetközi kutatásba, illetve hazai K+F kapacitás-fejlesztés. A DNS-alapú, illetve lipid biomarker kutatások összekapcsolódó hazai és nemzetközi együttműködések keretében zajlottak: az SZTE Embertani Tanszék koordinálásával folyó vizsgálatokban részt vett a Magyar Természettudományi Múzeum Embertani Tára, a EURAC Research, Institute for Mummy Research, Bolzano, a University of Birmingham, Institute of Microbiology and Infection, illetve a Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszéke és Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Intézete. A steril mintavételezésre összehangoltan került sor mindkét alprojekt számára, a EURAC Research bolzanoi aDNS laboratóriumában, a projekt magyar résztvevőinek közreműködésével. A K 125561 sz. kutatás kiemelkedő eredménye Váradi Orsolya Anna 2021-ben *summa cum laude* eredménnyel megvédett, *Mycobacterium tuberculosis* complex baktériumok sejtfalalkotó specifikus lipid komponenseinek diagnosztikájára épülő angol nyelvű PhD dolgozata (Váradi, 2021). Váradi és munkacsoportja új HPLC-HRMS módszert fejlesztett *Mycobacterium* fajok lipid biomarkereinek kimutatására történeti leletanyagból, David E. Minnikin University of Birmingham-en kidolgozott protokollja módosításával. A HPLC-HRMS technika paramétereit mikolsavakra és mikocerozátokra optimalizálták, ill. lipid profil könyvtárat hoztak létre klinikai MTBC és NTM izolátumok felhasználásával, mind a mikolsavak, mind a mikocerozátok azonosításához. Bizonyítást nyert, hogy a módszer mind mikolsavak, mind mikocerozátok alapján alkalmas a korabeli mycobacteriális fertőzöttség kimutatására, és a fertőző ágensek – köztük MTBC – tipizálására. A kifejlesztett lipid biomarker alapú módszert jelölt és munkacsoportja a MTM ET Váci múmiagyűjteményének egyénein tesztelte. A kutatási eredményeket nemzetközi publikációkban és konferencia előadások keretében ismertettük (e.g. Váradi *et al.*, 2019b, 2020, 2021, 2022). Szintén kiváló új eredményeket hoztak a DNS alapú metodikai kutatások. A EURAC Research bolzanoi aDNS laboratóriumában magyar mintákon elvégzett teszt-eredményeket először a projekt keretében rendezett budapesti workshop-on mutattuk be (Jäger *et al.*, 2019), míg a kiválasztott

váci múmia-minták esetében alkalmazott új metagenomikai eljárások eredményei szakspecifikus nemzetközi folyóirat-cikkekben jelentek meg (Jäger *et al.*, 2022, 2023).

2) A tuberkulózis evolúciójával kapcsolatos ismereteink bővítésére irányuló paleopatológiai kutatások

a. Paleopatológiai vizsgálatok hazai történeti embertani csontváz-szériákban

A K 125561 projekt 1) pontban részletezett módszertani fejlesztési célkitűzései mellett fontos figyelmet szenteltünk a paleopatológiai adatgyűjtésnek, azok feldolgozásának és szintézisének. A K 125561 kutatás paleoepidemiológiai aspektusból részben a korábbi, K 78555 („A tuberkulózis paleoepidemiológiája”, 2009-2014, témavezető: Dr. Pálfi György) OTKA projekt folytatásának is tekinthető. Paleopatológiai vizsgálataink legfőbb bázisa jelen kutatási projektünkben is az SZTE Embertani Tanszék humán oszteológiai gyűjteménye volt. A K 125561-es projekt keretében azonban további hazai gyűjteményekből származó új adatok is gazdagították eredményeinket, újabb intézményközi együttműködéseinknek köszönhetően. Az 1.a) alpontban jelzett módszertani fejlesztések hasznosan járultak hozzá a projekt paleoepidemiológiai vizsgálataihoz olyan korok esetében is, ahonnan már álltak rendelkezésünkre régi tbc-s leletek, hiszen az új kritériumok alkalmazása pontosította a gyakorisági értékeket - pl. avar kor (Spekker *et al.*, 2022b), Árpád-kor (Spekker *et al.*, 2021b). A pontosított morfológiai markerek segítségével kimutattuk a betegséget olyan korokból is, ahonnan vonatkozó információval még nem rendelkezünk (pl. hun kor, Spekker *et al.*, 2023). A fentiekben citált avar kori esetben - részben a paleomikrobiológiai módszertani fejlesztéseinknek köszönhetően - DNS-vizsgálattal is sikerült bizonyítani a rendkívül ritka koponya-tbc-s morfológiai tünet és a MTBC fertőzés közötti összefüggést. A K 125561 projekt keretében összesen több, mint ötezer történeti embertani váz vizsgálatára/újrvizsgálatára került sor, az előbb említett esetekkel együtt összesen közel kétszáz régi tuberkulózis esettel gazdagítva a szakirodalmat (e.g. Marcsik *et al.*, 2019, Marcsik és Molnár 2019, Kiss *et al.*, 2023). Fontos újabb eredmények bizonyítják a tuberkulózis őskori Kárpát-medencei előfordulását (e.g. Molnár *et al.*, 2019, Gémes *et al.*, 2023), megerősítve azt, hogy a betegség már 7-8 ezer évvel ezelőtt komoly egészségügyi kihívást jelentett elődeink számára.

b. Tbc paleopatológiai kutatása hazai és külföldi prehisztorikus leleteken

A projekt keretében, nemzetközi együttműködéseink kamatoztatva, kísérletet tettünk néhány különlegesen régi maradvány újrvizsgálatára. Azok közül a leletek közül, amelyek esetében korábban felvetettük a lehetséges fertőzéses eredetű (és esetleg tbc-s) megbetegedést, Les Iboussières franciaországi felső-paleolit lelőhely emberi maradványait és a magyarországi subalyuki neandervölgyi lelőhelyről származó maradványokat sikerült bevonnunk a vizsgálatokba. A paleopatológiában ritkán alkalmazott microCT vizsgálatokkal és microCT alapú 3D rekonstrukció segítségével sikerült igazolni az egyik, közel 11 ezer éve élt, Les Iboussières-ből származó egyén súlyos csontelváltozásainál a *sacro-iliacalis tuberculosist* (Coqueugniot *et al.*, 2023). Ez az eset jelzi, hogy nem csak a neolitikus kor letelepedett földművelői, hanem a néhány ezer évvel korábban élt nyugat-európai vadászó/gyűjtögető elődök számára sem volt ismeretlen a betegség. A K 125561 projekt legnagyobb tudományos szenzációját azonban a több tízezer évvel korábban, a mai Magyarország területén élt neandervölgyi emberek tbc-s megbetegedésének felfedezése jelenti. A subalyuki barlangban talált felnőtt és gyermek csontmaradványokon egyaránt kimutattunk tuberkulózissal összefüggésbe hozható elváltozásokat. Morfológiailag (támaszkodva a korábbiakban jelzett diagnosztikai kutatásaink tapasztalataira) a 35-36 ezer éve elhunyt gyermek endocranialis elváltozásai tuberkulózis specifikusnak tekinthetők, míg a mintegy 39 ezer évvel ezelőtt élt felnőtt egyén bizonyos csontváz-elemeinek morfológiai elváltozásai felvetik a tbc lehetőségét (Pálfi *et al.*, 2020, Pálfi *et al.*, 2023b). A paleomikrobiológiai vizsgálatok közül MTBC DNS előfordulását jelzi a PCR vizsgálat és a spoligotyping a gyermek csontok esetében. A lipid biomarker vizsgálatok közül a mikocerozát eredmények szintén a gyermek esetében meggyőzőek, de enyhén pozitív mikolsav eredmények is születtek: 2 gyermek és 1 felnőtt minta esetében (Minnikin *et al.*, 2020, Lee *et al.*, 2023). A morfológiai és paleomikrobiológiai vizsgálatok együttesen meggyőző alapot biztosítanak ahhoz, hogy a subalyuki gyermek maradványát határozottan tbc fertőzöttnak mondhassuk, míg a felnőtt maradványok lehetséges tbc fertőzöttsége a jelenleg tudományosan vállalható állítás. E két nagy

jelentőségű leletnél az eddig soha meg nem valósított C14-es datálás (alapvető fontosságú az esetek interpretálása szempontjából) is a K 125561 projekt eredménye volt (Mester *et al.*, 2023). A korábbi paleontológiai datálások eredményeihez képest több tízezer évvel fiatalabbnak meghatározott leletek kora alapján a subalyuki leletek a nagyon kései neandervölgyiekhez tartoznak, elhalálozásuk jóval későbbi, mint a modern ember nyugat-európai megjelenése. Betegség-tüneteik, a tbc-evolúcióval kapcsolatos pillanatnyi ismereteink és az új datálási eredményeink alátámasztják azt a lehetséges forgatókönyvet, hogy az európai neandervölgyi populáció létszámának jelentős csökkenését okozhatta az Európába a modern ember által behozott MTBC fertőzés (Lee *et al.*, 2023).

c. Tbc paleopatológiai kutatása múmiákban

A K 125561 projekt keretében született eredmények háttérében az esetek túlnyomó többségében oszteológiai vizsgálatok álltak. Kisebb számban, de születtek fontos eredményeink múmiák vizsgálatával összefüggésben is. Mumifikálódott leletek esetében vizsgálati anyagaink minden esetben a MTM Embertani Tár váci múmiagyűjteményéből kerültek ki. A többségükben 18. században elhunyt váci polgárok mumifikálódott maradványainál már számos korábbi kutatás (köztük több OTKA projekt) kimutatta a nagyarányú tbc-fertőzöttséget. Teljes körű PCR-alapú vizsgálatuk már két évtizede megvalósult, paleopatológiai vagy paleogenomikai vizsgálatokra azonban csak korlátozott számú egyén esetében került eddig sor. Jelen kutatás keretében több tbc-re fókuszáló paleoradiológiai esettanulmányt valósítottunk meg – ezek Szikossy Ildikó sikeres, projektünk keretében elkészített és megvédett PhD értekezésében kerültek bemutatásra (Szikossy, 2020). Több 18. századi múmia multidiszciplináris vizsgálata bizonyította tuberkulózis és egyéb betegségek együttes megjelenését (e.g. Pap *et al.*, 2019a, Pálfi *et al.*, 2019b). Projektünk keretében a teljes múmiagyűjtemény tbc-kutatása kapcsán külföldi és hazai könyvfejezetünk is megjelent (Donoghue *et al.*, 2021, Pap *et al.*, 2022a). Amint arról részletesen beszámoltunk az 1.b. pontban, az általában jó DNS megtartású váci múmiákból számos esetben vettünk mintát a paleomikrobiológiai kutatásokhoz. Kítűnő új eredményeket értünk el mind a lipid-biomarker, mind a MTBC aDNS kutatás területein (ld. 1.b.). Az archaikus DNS-sel kapcsolatos tanulmányok azonban járványtörténeti/molekuláris evolúciós információkkal is szolgáltak. Az egyik – egyszerre szifilisz és tbc-s tüneteket is mutató – múmia szövetmintájából kinyert aDNS-maradványok metagenomikai vizsgálata azt is kimutatta, hogy a beteget a *Mycobacterium tuberculosis* baktérium két különböző törzse (MTBC L4.1.2.1/Haarlem és L4.10/PGG3) is megfertőzte (Jäger *et al.*, 2022). A projekthez kapcsolódó múmia tbc kutatásainkat is bemutató nemzetközi folyóiratcikkünk 2023 végén jelent meg (Zink *et al.*, 2023).

3) Témaspécifikus nemzetközi konferencia rendezése és tanulmánykötet szerkesztése – az eredeti javaslat, és a szakmai-technikai okok következtében többszörösen túlteljesített indikátor

a. BMSA 2020 konferencia tervezése az eredeti javaslat szerint

Az SZTE Embertani Tanszéke korábban 2 alkalommal rendezett nemzetközi konferenciát a tuberkulózis evolúciója és paleoepidemiológiája témakörben Szegeden (ICEPT-1, 1997, ICEPT-2012), az 1993-ban általunk indított ICEPID sorozatban. A harmadik tuberkulózis rendezvény nemzetközileg elfogadott ideje 2022 volt, így az eredetileg 2017-2021 között tervezett K 125561 projekt megvalósítási idejében – sajnálatos módon – nem lehetett ICEPT rendezvényt tervezni. Feltétlenül fontosnak tartottuk azonban, hogy a K 125561 'Tuberkulózis és evolúció' c. kutatás eredményeit is bemutathassuk/megvitathassuk nemzetközi szakmai rendezvényen. Erre választottuk az alapvetően paleopatológiai/paleoepidemiológiai profilú „5th International Congress of Biomedical Sciences and Methods in Archaeology (BMSA)” konferenciát, amelyet 2020-ra elnyert az SZTE Embertani Tanszéke, és amelyet kiemelten az archaikus tuberkulózis biomedikális kutatásainak kívántunk szentelni. A konferencia tervezését előbb megnehezítette, majd ellehetetlenítette, hogy a 2017 végére tervezett torontói 4. BMSA Kongresszus többszörösen halasztásra került (minden esetben módosítva az 5., Szegedre tervezett esemény idejét is), végül 2020-ban az egész sorozat megszüntetésre került. A közben kitört COVID-19 pandémia újabb komoly akadályokat gördített a nemzetközi rendezvény-szervezésünk elé. A szervezést és kutatást egyaránt érintő nehézségek miatt a projekt végének halasztását kellett kérnünk. Az

NKFIH által jóváhagyott módosítás egyúttal lehetőséget adott a ténylegesen projekt-specifikus ICEPT-3 megrendezésére is.

- b. „Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop” (Budapest, 2019) és „International Congress on the Evolution and Paleoepidemiology of Tuberculosis – 3.” („ICEPT-3”, Szeged, 2022)

Az SZTE Embertani Tanszéke 2019 augusztusában Budapesten paleoepidemiológiai/paleomikrobiológiai aspektusú tudományos tanácskozást rendezett ([https://cdn-cms.f-static.com/uploads/1959378/normal\\_5d5e9efbba194.pdf](https://cdn-cms.f-static.com/uploads/1959378/normal_5d5e9efbba194.pdf)), amelynek célja a K 125561 projekt első két éve során elért eredmények, felmerült nehézségek megvitatása, valamint külföldi partnereink bevonásával a következő évek együttműködési stratégiáinak meghatározása volt a régi tuberkulózis esetek diagnosztikája területén. A K 125561 projekt résztvevői több előadással vették ki részüket az NKTIH támogatással megvalósított nemzetközi rendezvény sikeréből (e.g. Jäger *et al.*, 2019, Maixner *et al.*, 2019, Pap *et al.*, 2019a, Pálfi *et al.*, 2019a, Váradi *et al.*, 2019a).

Vitathatatlanul a projekt legrangosabb eseménye volt a 2022 júliusában Szegeden megtartott jubileumi ICEPT-3 nemzetközi kongresszus (<https://www2.bio.u-szeged.hu/icept-3/doku.php>). 2022-re megteremtődtek a hibrid lebonyolítás minőségi feltételei, így a tbc paleopatológiai kutatásaitól a MTBC molekuláris evolúciós kérdéseig ívelő tematika negyven előadását a helyszínen több, mint 50, online közel 150 szakember követhette, 4 kontinensről. A konferencia előadási közül tíznél több kapcsolódott a K 125561 projekt eredményeihez (e.g. Pap *et al.*, 2022b). Előadásaink címei a konferencia web-oldalán találhatóak meg. (Mivel az előadások többsége később folyóiratcikk formájában megjelent, az abstract-ek többsége a Záróbeszámoló „Közlemények” listájában már nem szerepel, az NKTIH javaslata szerint.) A konferencia fontos eseménye volt a David E. Minnikin Emlékszekció, amellyel az egy évvel korábban elhunyt legendás brit professzor munkássága előtt tisztelegtünk (e.g. Váradi *et al.*, 2022). Minnikin professzor több mint 3 évig segítette a K 125561 projektet, többször Szegedre, illetve Budapestre jött, több alkalommal fogadta kutatóútra szegedi kollégáinkat – közöttük Váradi Orsolya Annát, akinek PhD munkájához is alapvető fontosságú segítséget nyújtott.

- c. „Paleopathology and Evolution of Tuberculosis” (*Tuberculosis*, Volume 143, Supplement Issue, December 2023)

Az ICEPT-3 rendezvény sikere, és nagyon pozitív nemzetközi visszhangja alapján a *Tuberculosis* (Elsevier, IF: 3,200, Q2) szakfolyóirat főszerkesztője felajánlotta, hogy a folyóirat ismét szívesen szentel külön számot eredményeinknek. (Előzmény: a korábban említett K 78555 OTKA kutatás keretében rendezett 2012-es ICEPT-2 eredményeiből 2015-ben jelent meg a „Tuberculosis in Evolution” c. korábbi tanulmánykötetünk, szintén a *Tuberculosis* különszámaként.) Mivel a *Tuberculosis* folyóirat felajánlása alig egy hónappal a K 125561 projekt akkor érvényes zárása előtt fogalmazódott meg, újabb egy év hosszabbítást kértünk a tanulmánykötet megszervezésére, a tanulmányok megírására, szerkesztésére, bíráltságára, megjelentetésére. Az NKTIH vezetőjétől kapott engedély lehetővé tette, hogy ismét egy önálló folyóirat szám jelenhessen meg az NKTIH támogatás feltüntetésével – a projekt eredeti vállalásain felüli „extra-eredményként”. A tanulmánykötet a *Tuberculosis* 2023 decemberi önálló mellékleteként jelent meg 2023. november 30-án (Pálfi *et al.*, 2023a – 1. és 2. képek). A kötet 23 tanulmányából 10 folyóiratcikk a K 125561 projekt eredményeit mutatja be (3. kép). A projekt legfontosabb külföldi és hazai partnereinek társszerkesztésével készült kötet alapvető új ismeretekkel szolgál a tuberkulózis paleopatológiájával, evolúciójával kapcsolatos kutatások számára (4. kép).

#### 4) A K 125561 projekt kapcsolódása a tudományos utánpótlás-neveléshez

A projekt megvalósításában az SZTE Embertani Tanszék oktatói, kutatói, kapcsolódott hazai külső kutatóink (pl. SZTE Mikrobiológia Tanszék, MTM Embertani Tár) és külföldi partnereink (pl. EURAC Bolzano, University of Birmingham, EPHE-PSL) mellett folyamatosan több PhD hallgatónk is részt vett: a projekt teljes időszakában összesen 11 doktorandusz vagy doktorjelölt. A 6 év hosszú projekt azt is lehetővé tette, hogy olyan fiatal kutatónk, aki a projekt elején még doktorandusz

résztevéő volt (Spekker Olga), a projekt végén már PhD témavezető posztdoktor kutatóként doktoranduszával (Madai Ágota) vegyen részt, és teljesítse ki a korábban megkezdett kutatásait.

A 11, különböző szinten bekapcsolódott doktorandusz közül öten védték meg eredményesen PhD értekezéseiket a projekt folyamán. Közülük 100%-ban a projekthez kapcsolódó, annak alaptémát adó PhD kutatást folytatott Spekker Olga és Váradi Orsolya Anna (Spekker 2018, Váradi 2021), amint azt részletesen ismertettük Záróbeszámoló 1a-b pontjainál. Szikossy Ildikó múmiakutatási PhD dolgozata (Szikossy 2020, ld. 2c pontnál) mintegy 50%-ban tekinthető a K 125561 projekt eredményének. William Berthon és Tihanyi Balázs PhD (Berthon, 2019, Tihanyi, 2020) kutatásai esetében az arány kisebb, 25-25%, de a kutatásaik során feldolgozott honfoglaláskori szériák vizsgálata során jelentős számú csont-ízületi tbc-fertőzést diagnosztizáltak, és mindketten hatékonyan hozzájárultak a projekt publikációs aktivitásához is.

Feltétlenül meg kell emlékeznünk projektünk kutatója, Dr.habil. Molnár Erika 2021-ben írt és sikeresen megvédett habilitációs értekezéséről, amelynek egyik fő pillérét (mintegy 50%-át) jelentette a K 125561 projektben folytatott tbc-paleopatológiai kutatási vonal. Spekker Olga PhD társ-témavezetőjeként és szenior kutatóként elévülhetetlen érdemeket szerzett a projekt sikerében.

## **A projekt eredményessége, publikációs teljesítménye**

A K 125561 projekt eredményességét egyaránt jelzik a projekt módszertani fejlesztés-alapú sikeres PhD kutatásai, a több ezer hisztorikus és prehisztorikus embertani lelet feldolgozásával elért új paleoepidemiológiai eredmények, a 2, témaspecifikus nemzetközi rendezvény megrendezése (ahol az ICEPT-3 konferenciát nemzetközi tanulmánykötet megjelenése is koronázta), több, mint fél száz kapcsolódó konferencia-előadás, és az ötvennél több *in extenso* közlemény. (A Záróbeszámoló „Közlemények” táblázatában (NKFIH EPR) az összes konferencia abstract-nek csupán mintegy a fele szerepel – igyekeztünk helyettük a már megjelent *in extenso* közlemények bibliográfiai adatait megadni.)

Mind a morfológiai, mind a molekuláris diagnosztikai fejlesztési eredmények hasznosan járultak hozzá a paleopatológiai kutatómunkánkhoz és az eredmények paleoepidemiológiai szintéziséhez. Alapvető jelentőségű a tbc paleopatológiai diagnosztikája számára az endocranialis elváltozások diagnosztikai értékének tisztázása. Új eredményeket és módszertani megoldásokat hoztak a kutatásaink mind a DNS-, mind a lipid biomarker alapú paleomikrobiológia területein. Eredményesen hozzájárultunk a tuberkulózis régészeti korszakok szerinti adatbázisainak gazdagításához. Jelentős eredménynek tartjuk az újabb hazai őskori – elsősorban neolitik – tbc-s leletek azonosítását és a franciaországi felső-paleolitik kori tbc paleoradiológiai igazolását. A projekt kiemelkedő eredménye a hazai neandervölgyi tbc kimutatása a subalyuki leletek esetében. A projekt keretében pontosított datálás ismeretében ezek az eredmények biztosan befolyásolni fogják a tuberkulózis régmúltjával kapcsolatos járványtörténeti elképzeléseket.

A projekt eredményességét fémjelzi a hatékony nemzetközi publikációs aktivitás. A publikációk között kisebb számban szerepelnek könyvfejezetek, önálló tanulmánykötet, nemzetközi konferencia közlemények ill. hazai szakfolyóirat-cikkek is.

Különösen jelentős eredménynek tartjuk a projekt témájában elkészült és megjelent 31 db, nemzetközi szakfolyóiratban, döntő többségükben a projekt tagjainak első/utolsó-szerzőségével megjelent IF-os szakcikket - összesített IF: 63,2. Ezeknek a tanulmányoknak mintegy egyharmada a projekt végére elkészült, és a projekt keretében szerkesztett tanulmánykötetben jelent meg (Pálfi *et al.*, 2023a).

(A „Paleopathology and Evolution of Tuberculosis” című *Tuberculosis* különszám teljes egésze és valamennyi szakcikke a NKTIH K 125561 projekt keretében jelent meg, így a NKTIH támogatás feltüntetésével, IF-os nemzetközi szakfolyóiratban megjelent, projekthez kapcsolódó szakcikkek száma a 40-et, egyesített IF-aik száma pedig a 100-at is meghaladja.)

## **Köszönetnyilvánítás**

Kutatómunkánk támogatásáért, a hosszabbítási kérelmeink pozitív elbírálásáért, a projekt rendkívül hatékony, rugalmas és segítőkész adminisztratív ügyintézéséért hálás köszönetünket fejezzük ki a NKTIH-nak.

A projekt sikerét nagyban segítette hazai és külföldi partnereink lelkes közreműködése, amiért ezúttal is köszönetünket fejezzük ki.

## **A kutatási eredmények rövid összefoglalása**

Interdiszciplináris együttműködések keretében vizsgáltuk a tuberculosis diagnosztikus lehetőségeit régi emberi maradványokon, és az új módszertani fejlesztési eredményeket is felhasználva több mint 5 ezer emberi maradványt tanulmányoztunk (a prehisztorkustól a modern időkig).

Új eredményeket értünk el a tbc okozta endocranialis elváltozások tipizálása és azok validálása területén, melyek fontos segítséget jelentenek a későbbi paleopatológiai kutatások számára. Paleomikrobiológiai szempontból jelentős a lipid biomarker kutatás hazai beindítása, a HPLC-HRMS technika optimalizálása és az eljárás sikeres alkalmazása. A DNS-alapú archaikus MTBC kutatás terén újdonságot jelentenek metagenomikai elemzési eredményeink. Diagnosztikai kutatásaink új eredményekkel, 2 új PhD-val és tucatnyi rangos publikációval szolgáltak.

Paleoepidemiológiai kutatásaink eredményei hozzájárultak a tuberculosis régészeti korszakok szerinti adatbázisainak gazdagításához. Jelentősnek tartjuk az újabb hazai neolitikus tbc-s leletek azonosítását és a franciaországi felső-paleolitikus kori tbc paleoradiológiai igazolását. A projekt evolúciós aspektusból is kiemelkedő eredménye a tbc kimutatása a subalyuki neandervölgyi leletek esetében.

A projekt eredményességét jelzi a hatékony nemzetközi publikációs aktivitás (31 db, nemzetközi szakfolyóiratban megjelent IF-os szakkikk). Eredményeink diffúzióját segítette a projekt keretében rendezett két nemzetközi konferencia és a 2023 végén megjelent tanulmánykötet.

## **Summary**

In the framework of interdisciplinary collaborations, we examined the diagnostic possibilities of TB in bioanthropological remains, and using the results of new methodological developments, we studied more than 5 thousand human remains (from prehistoric to modern times).

We have achieved new results in typing and validating endocranial lesions caused by TB, which furnish important help for later paleopathological research. From a paleomicrobiological point of view, the introduction of lipid biomarker research in Hungary, the optimization of the related HPLC-HRMS technique, and the successful applications of the procedure are significant. Our metagenomic results are new in the field of DNA-based archaic MTBC research. Our diagnostic research yielded 2 new PhDs and a dozen significant publications.

The results of our paleoepidemiological research contributed to the enrichment of osteoarcheological TB databases. We consider identifying new Hungarian Neolithic TB cases and the paleoradiological confirmation of Upper Paleolithic TB in France to be significant. The outstanding result of the project, also from the evolutionary point of view, is the detection of TB in the Subalyuk Neanderthal remains.

The effectiveness of the project is indicated by the effective international publication activity (31 articles published in IF international journals). The diffusion of our results was facilitated by organizing two international conferences and publishing a *Tuberculosis* special issue.



**A Záróbeszámolóban idézett fontosabb referenciák** (a teljesség igénye nélkül – a projekthez kapcsolódó publikációk összessége a Záróbeszámoló „Közlemények” listájában az NKFIH-EPR honlapon konzultálható)

Berthon William: Bioarchaeological Analysis of the Mounted Archers from the Hungarian Conquest Period (10th Century): Horse Riding and Activity-Related Skeletal Changes., Szegedi Tudományegyetem Doktori Repozitórium, 2019.

Donoghue H.D., Pap I., Szikossy I., Spigelman M.: The Vác Mummy Project: Investigation of 265 Eighteenth-Century Mummified Remains from the TB Pandemic Era., In: Shin D.H., Bianucci R. (eds), The Handbook of Mummy Studies. Springer, Singapore., 2021.

Coqueugniot Helene, György Pálfi, Bernard Gély, Olivier Dutour: Upper Paleolithic tuberculosis: A probable case illustrated by paleoimaging methods (Azilian site of Les Iboussières, France), Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102373, 2023.

Gémes Anett, Orsolya Mateovics-László, Alexandra Anders, Pál Raczky, Géza Szabó, Krisztina Somogyi, Tamás Keszi, Katalin Éva Gyenesei, Loránd Olivér Kovács, Antónia Marcsik, László D. Szabó, Krisztián Kiss, Kitti Köhler, Zsuzsanna K. Zoffmann, Tamás Szeniczey, Tamás Hajdu: Tuberculosis in prehistory in Eastern Central Europe (Hungary) – Chronological and geographical distribution, Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102396, 2023.

Jäger Heidi Y., Ildikó Pap, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Frank Maixner, Albert R. Zink: Design and evaluation of a hybridization capture assay targeting Mycobacterium tuberculosis complex DNA in ancient human remains, Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop 27th August 2019, Budapest, Hungary, 2019.

Jäger Heidi Y. , Frank Maixner, Ildikó Pap, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Albert R. Zink: Metagenomic analysis reveals mixed Mycobacterium tuberculosis infection in a 18th century Hungarian midwife, Tuberculosis, <https://doi.org/10.1016/j.tube.2022.102181>, 2022.

Jäger Heidi Yoko, Daniel Atz Zanotelli, Frank Maixner, Nicole Nicklisch, Kurt W. Alt, Harald Meller, Ildikó Pap, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Albert R. Zink: Hit or miss - A metagenomic evaluation of intra-bone variability of host pathogen load in tuberculosis-infected human remains, Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102392, 2023.

Kiss Krisztián, Marianna Bálint, Antónia Marcsik, Áron Dávid, Sándor Évinger, Péter Gróf, Dániel Gróh, Katalin Éva Gyenesei, István János, Barbara Kolozsi, Loránd Olivér Kovács, Orsolya László, Csilla Libor, Mónika Merczi, Erika Molnár, Csilla Emese Németh, György Pálfi, Ágota Perémi, Zsófia Rácz, Olga Spekker, Béla Miklós Szőke, István Zsolt Tóth, Zoltán Tóth, Tamás Hajdu, Tamás Szeniczey: More than one millennium (2nd-16th century CE) of the White Plague in the Carpathian Basin – New cases, expanding knowledge, Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102387, 2023.

Lee OY-C, Wu HHT, Besra GS, Minnikin DE, Jäger HY, Maixner F, Zink A, Gasparik M, Pap I, Bereczki Z, Pálfi G: Lipid biomarker detection for tuberculosis in Late Neanderthal skeletons from Subalyuk Cave, Hungary, Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102420, 2023.

Maixner Frank, Heidi Y. Jäger, Ildikó Pap, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Albert R. Zink: TB or not TB, that is the question! Molecular evolutionary analysis of tuberculosis in ancient human remains., Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop 27th August 2019, Budapest, Hungary, 2019.

Marcsik A., Molnár E.: A Duna-Tisza köze avar korának biológiai rekonstrukciójáról., In: Balogh Cs., Szentpéteri J., Wicker E. (szerk) – Hatalmi központok az avar kaganátusban. Katona József Múzeum - MTA BTK MÓT, Kecskemét. 421-432., 2019.

Marcsik A., Balázs J., Hajdu T., Molnár E., Szeniczey T.: A magyarhomorog-kónya-dombi 10. és 11-12. századi temetők embertani anyaga., In: Kovács L. (szerk) - Magyarhomorog-Kónya-domb 10. századi szállási és 11-12. századi falusi temetője. Martin Opitz Kiadó. Szeged-Budapest. 557-610., 2019.

Minnikin David, Oona Lee, Houdini Wu, Gareth Llwellyn, Christopher Williams, Ildikó Pap, György Pálfi, Frank Maixner, Albert Zink, Heidi Jaeger: Lipid biomarkers for tuberculosis are present in Neanderthal skeletal remains from Subalyuk, Hungary, 26th EAA Virtual Annual Meeting, 24-30 August 2020 - abstract book, 2020.

Mester Z, Coqueugniot H, Tillier A-m, Rosendahl W, Friedrich R, Zink A, Maixner F, Dutour O, Bereczki Z, Gasparik M, Pap I, Pálfi G.: First direct dating of the Late Neanderthal remains from Subalyuk Cave in Northern Hungary., *Anthropologischer Anzeiger*, DOI: 10.1127/anthranz/2023/1716, 2023.

Molnár E, Spekker O, Bereczki Zs, Masson M, Pálfi Gy: Tuberculosis in the Neolithic Period of South-Eastern Hungary., In: From Palaeolithic to Cossack Ukraine. Program. Abstracts. Kijev, Ukrajna. 2019.11.21.-2019.11.23. p. 23., 2019.

Pap I., Pálfi Gy, Szikossy I: A XVIII. századi váciak tanúsága., In: Kovács G (ed), A tuberkulózisról - másképpen. Medicina Könyvkiadó Zrt, Budapest 2022. pp 60-69., 2022a.

Pap Ildikó, Ildikó Szikossy, György Pálfi: 25 years of international TB research on the Vác Mummy Collection, ICEPT-3 Meeting – Tuberculosis in Evolution - Program, 2022b.

Pap I., Szikossy I., Maixner F., Zink A.R., Spigelman M., Donoghue H.D., Pálfi G.: Fantastic aTB publications from the Vác mummy collection in 2003 and 2013. Can we wait for new fantastic publications for 2023?, Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop 27th August 2019, Budapest, Hungary, 2019a.

Pap, I., Szikossy, I., Váradi, O. A., Szekeres, A., Bereczki, Zs., Karlinger, K., Póloskei, G., Csukovits, A., Szvák, E., Spigelman, M., Donoghue, H.D., Maixner, F., Zink, A., Pálfi, G.: Pathological alterations caused by gout of an 18th century TB infected woman from the Vác Mummy Collection, Hungary, IIIrd Conference of the 'Török Aurél' Anthropological Association. Marosvásárhely, 2019. október 11-13. Abstracts and Program., 2019b.

Pálfi György, Olivier Dutour, Tamás Hajdu, Christophe Sola, Albert Zink (Eds.): Paleopathology and Evolution of Tuberculosis, Tuberculosis Volume 143, Supplement Issue, December 2023, 2023a.

Pálfi, G., Molnár, E. Bereczki, Z., Coqueugniot, H., Dutour, O., Tillier, A-m., Rosendahl, W., Sklánitz, A., Mester, Z., Maixner, F., Zink, A., Minnikin, D.E. and Pap, I.: Re-examination of the Subalyuk Neanderthal remains uncovers signs of probable TB infection (Subalyuk Cave, Hungary)., Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102419, 2023b.

Pálfi György, Erika Molnár, Ildikó Pap: The great antiquity of TB in Hungary and the necessity of paleopathology-paleomicrobiology cooperation, Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop 27th August 2019, Budapest, Hungary, 2019a.

Pálfi György, Ildikó Pap, Anne-marie Tillier, Krisztián Szigeti, Erika Molnár, Wilfried Rosendahl, Johannes Krause, Cosimo Posth, Frank Maixner, Albert Zink: RE-EXAMINATION OF THE SUBALYUK NEANDERTHAL REMAINS (SUBALYUK CAVE, HUNGARY), 26th EAA Virtual Annual Meeting, 24-30 August 2020 - abstract book, 2020.

Pálfi, Gy., Szikossy, I., Váradi, O., Karlinger, K., Maixner, F., Pap, I.: Multidisciplinary study of an 18th century mummy (Vác, Hungary) – a possible TB-syphilis co-infection and other profession related changes, IIIrd Conference of the 'Török Aurél' Anthropological Association. Marosvásárhely, 2019. október 11-13. Abstracts and Program., 2019b.

Spekker Olga: Evaluation of endocranial bony changes in relation to tuberculosis in the Robert J. Terry Anatomical Skeletal Collection. (témavezetők: Molnár Erika, Pálfi György), Doktori értekezés, Szegedi Tudományegyetem. SZTE Doktori Repoitórium, 2018.

Spekker Olga, David R. Hunt, Laszlo Paja, Erika Molnar, Gyorgy Palfi, Michael Schultz: Tracking down the White Plague: The skeletal evidence of tuberculous meningitis in the Robert J. Terry Anatomical Skeletal Collection, PLoS ONE 15(3): e0230418., 2020a.

Spekker Olga, Michael Schultz, Laszlo Paja, Orsolya A. Varadi, Erika Molnar, Gyorgy Palfi, David R. Hunt: Tracking down the White Plague. Chapter two: The role of endocranial abnormal blood vessel impressions and periosteal appositions in the p.p. diagnosis of TB meningitis, PLoS ONE 15(9): e0238444., 2020b.

Spekker O, Hunt DR, Berthon W, Paja L, E, Pálfi Gy, Schultz M.: Tracking down the White Plague. Chapter three: Revision of endocranial abnormally pronounced digital impressions as paleopathological diagnostic criteria for tuberculous, PLOS ONE16(3): e0249020, 2021a.

Spekker Olga, David R. Hunt, William Berthon, Molnár Erika, Pálfi György: Insights into the diagnostic efficacy and macroscopic appearance of endocranial bony changes indicative of tuberculous meningitis: Three example cases from ..., INTERNATIONAL JOURNAL OF OSTEOARCHAEOLOGY, 2022a.

Spekker O, Kis L, Deák A, Makai E, Pálfi Gy, Váradi OA, Molnár E.: An unusual case of childhood osteoarticular tuberculosis from the Árpáadian Age cemetery of Győrszentiván-Révhegyi tag (Győr-Moson-Sopron county, Hungary)., PLOS ONE16(4): e0249939., 2021b.

Spekker, Olga ; Váradi, Orsolya Anna ; Szekeres, András ; Jäger, Heidi Yoko ; Zink, Albert ; Berner, Margit ; Pany-Kucera, Doris ; Strondl, Liesa ; Klostermann, Paul ; Samu, Levente ; Király Kitty ; Bereczki Zsolt ; Molnár Erika ; Pálfi György ; Tihanyi Balázs: A rare case of calvarial tuberculosis from the Avar Age (8th century CE) cemetery of Kaba–Bitózug (Hajdú-Bihar county, Hungary) – Pathogenesis and differential diagnostic, TUBERCULOSIS 135 Paper: 102226 , 15 p. (2022) <https://doi.org/10.1016/j.tube.2022.102226>, 2022b.

Spekker Olga, Luca Kis, Nikoletta Lukács, Eszter Patyi, Balázs Tihanyi: The first probable case with tuberculous meningitis from the Hun period of the Carpathian Basin – How diagnostics development can contribute to increase knowledge and ..., Tuberculosis Volume 143, Supplement, December 2023, 102372, 2023.

Szikossy Ildikó: Sebészeti beavatkozások nyomai a XVIII. századi váci múmiákon. PhD Disszertáció., SZTE Doktori Repoitórium, 2020.

Tihanyi Balázs: 10. századi fegyveresek aktivitás okozta szkeletális elváltozásainak összehasonlító vizsgálata., Szegedi Tudományegyetem Doktori Repoitórium, 2020.

Váradi Orsolya Anna: Development of lipid biomarker based diagnostic method for TB research in archaeological samples via HPLC-HRMS, SZTE Doktori Repoitórium, 2021.

Váradi Orsolya Anna; Dávid Rakk; Anita Kecskeméti; Gabriella Terhes; Olga Spekker; Csaba Vágvolgyi; András Szekeres; György Pálfi: The beginning of lipid biomarker research in Szeged: period of reflection, difficulties and preliminary results, Ancient Tuberculosis Diagnosis Workshop 27th August 2019, Budapest, Hungary, 2019a.

Váradi, O.A., Rakk, D., Kecskeméti, A., Terhes, G., Spekker, O., Vágvölgyi, Cs., Szekeres, A., Pálfi, Gy.: Optimization of lipid biomarker analysis revealing the ancient TB infections, IIIrd Conference of the 'Török Aurél' Anthropological Association. Marosvásárhely, 2019. október 11-13. Abstracts and Program., 2019b.

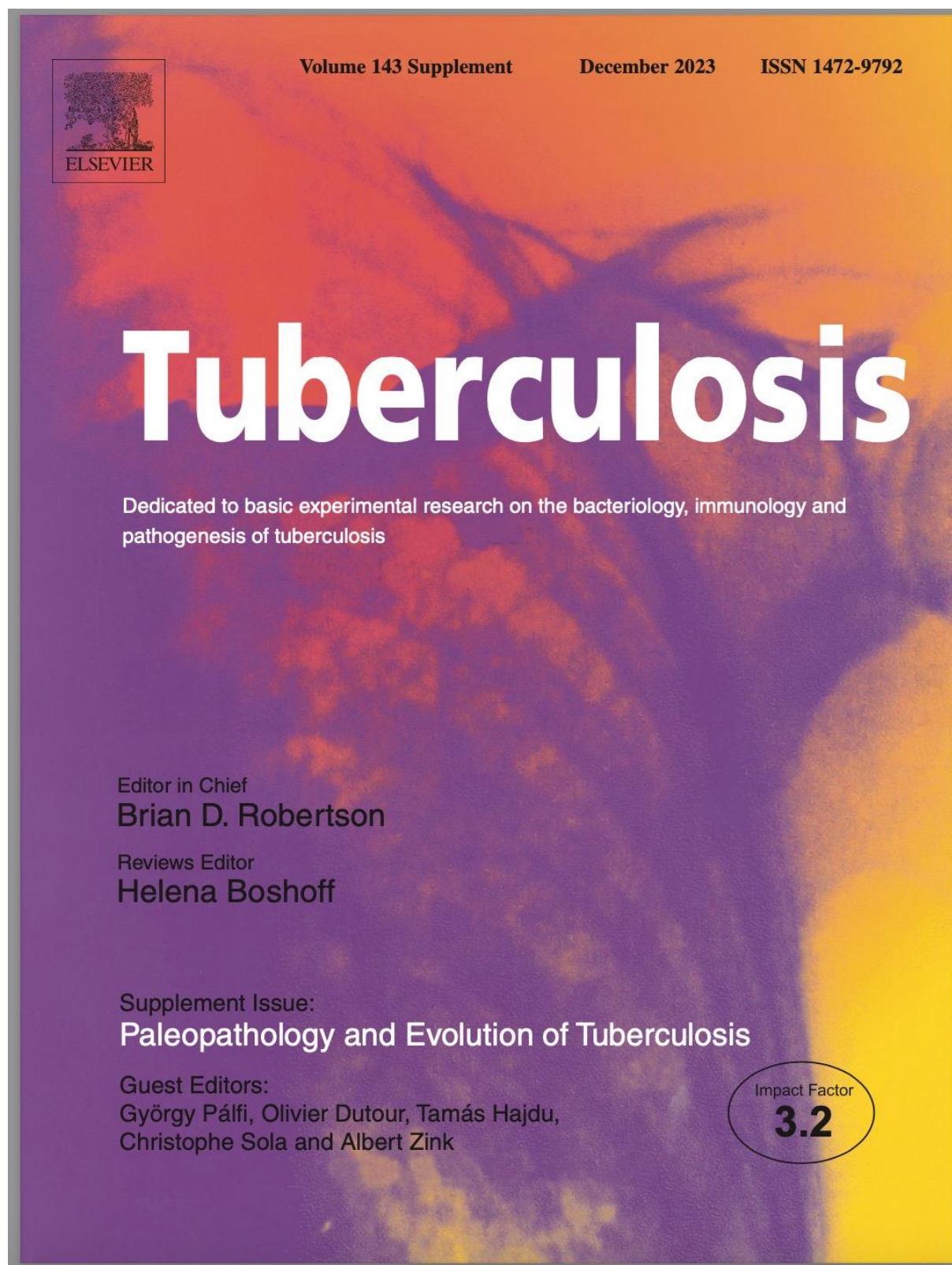
Váradi OA, Rakk D, Spekker O, Terhes G, Urbán E, Berthon W, Pap I, Szikossy I, Maixner F, Zink A, Vágvölgyi Cs, Donoghue HD, Minnikin DE, Szekeres A, Pálfi Gy.: Verification of tuberculosis infection among Vác mummies (18thcentury CE, Hungary) based on lipid biomarker profiling with a new HPLC-HESI-MS approach., *Tuberculosis* 126: 102037., 2021.

Váradi, Orsolya Anna ; Spekker, Olga ; Maixner, Frank ; Zink, Albert ; Rakk, Dávid ; Vágvölgyi, Csaba ; Terhes, Gabriella ; Szvák, Enikő ; Pap, Ildikó ; Szikossy, Ildikó et al.: The development, verification and objectives of a mycocerosic acid based HPLC-HRMS method for TB diagnostics in paleopathology, In: ICEPT-3 Meeting. Tuberculosis in Evolution. Program, 2022.

Váradi OA, Szikossy I, Spekker O, Rakk D, Terhes G, Urbán E, Berthon W, Pap I, Maixner F, Zink A, Vágvölgyi Cs, Donoghue HD, Minnikin DE, Pálfi Gy, Szekeres A.: Lipid biomarker-based verification of TB infection in mother's and daughter's mummified human remains (Vác Mummy Collection, 18thcentury, CE, Hungary)., *Acta Biologica Szegediensis*64(2): 99–110., 2020.

Zink Albert, Frank Maixner, Heidi Yoko Jäger, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Ildikó Pap: Tuberculosis in mummies – new findings, perspectives and limitations, *Tuberculosis* Volume 143, Supplement, December 2023, 102371, 2023.

1. kép: Pálfi G, Dutour O, Hajdu T, Sola C, Zink A (Eds.): Paleopathology and Evolution of Tuberculosis, Tuberculosis Volume 143, Supplement Issue, December 2023 - Címlap.



2. kép: Pálfi G, Dutour O, Hajdu T, Sola C, Zink A (Eds.): Paleopathology and Evolution of Tuberculosis, Tuberculosis Volume 143, Supplement Issue, December 2023 – Belső borító.

# Tuberculosis

Volume 143 Supplement (2023)

## Paleopathology and Evolution of Tuberculosis

Guest Editors:

**György Pálfi, Olivier Dutour, Tamás Hajdu, Christophe Sola & Albert Zink**

Conference Proceedings from the 3rd International Congress on the Evolution and Paleoepidemiology of Tuberculosis (ICEPT-3, 5th–6th July 2022, Institute of Biology, University of Szeged, Szeged, Hungary)

This publication was supported by the K 125561 ('Tuberculosis and Evolution') research grant of the National Research, Development and Innovation Office (NKFIH - Hungary) and the Department of Biological Anthropology, University of Szeged, Hungary.



Amsterdam • Boston • London • New York • Oxford • Paris • Philadelphia • San Diego • St. Louis



3. kép: Pálfi G, Dutour O, Hajdu T, Sola C, Zink A (Eds.): Paleopathology and Evolution of Tuberculosis, Tuberculosis Volume 143, Supplement Issue, December 2023 - Tartalomjegyzék.

## Table of Contents

<b>EDITORIAL</b>		
<b>Paleopathology and evolution of tuberculosis editorial</b> <i>György Pálfi, Olivier Dutour, Tamás Hajdu, Christophe Sola, Albert Zink</i>	102428	
<b>DAVID E. MINNIKIN'S MEMORIAL SESSION</b>		
<b>Professor David Minnikin Memorial Lecture: An era of the mycobacterial cell wall lipid biomarkers</b> <i>Oona Y-C Lee, Houdini H.T. Wu, Gurdyal S. Besra</i>	102415	
<b>In gratitude for the collaborative partnership with David E. Minnikin</b> <i>Orsolya Anna Váradi, Antónia Marcsik, Muriel Masson, Erika Molnár, Ildikó Pap, Olga Spekker, András Szekeres, György Pálfi</i>	102364	
<b>Re-examination of the Subalyuk Neanderthal remains uncovers signs of probable TB infection (Subalyuk Cave, Hungary)</b> <i>György Pálfi, Erika Molnár, Zsolt Bereczki, Hélène Coqueugnot, Olivier Dutour, Anne-marie Tillier, Wilfried Rosendahl, Antal Sklááitz, Zsolt Mester, Mihály Gasparik, Frank Maixner, Albert Zink, David E. Minnikin, Ildikó Pap</i>	102419	
<b>Sensitive lipid biomarker detection for tuberculosis in late Neanderthal skeletons from Subalyuk Cave, Hungary</b> <i>Oona Y-C. Lee, Houdini H.T. Wu, Gurdyal S. Besra, David E. Minnikin, Heidi Y. Jaeger, Frank Maixner, Albert Zink, Mihály Gasparik, Ildikó Pap, Zsolt Bereczki, György Pálfi</i>	102420	
<b>PALEOPATHOLOGY OF TUBERCULOSIS: SEVERAL MILLENNIA OF HARD EVIDENCE</b>		
<b>Upper Paleolithic tuberculosis: A probable case illustrated by paleoimaging methods (Azilian site of Les Iboussières, France)</b> <i>Hélène Coqueugnot, György Pálfi, Bernard Géty, Olivier Dutour</i>	102373	
<b>The paleopathology and paleoepidemiology of Upper paleolithic tuberculosis: Review of evidence and hypotheses</b> <i>Olivier Dutour</i>	102348	
<b>Oldest evidence of tuberculosis in the Mediterranean islands: From the mainland to Cyprus</b> <i>Françoise Le Mort, Joseph Oussama Baker, Bérénice Chamel, Hélène Coqueugnot, Olivier Dutour</i>	102388	
<b>Tuberculosis in prehistory in Eastern Central Europe (Hungary) – Chronological and geographical distribution</b> <i>Anett Gémes, Orsolya Mateovics-László, Alexandra Anders, Pál Raczky, Géza Szabó, Krisztina Somogyi, Tamás Keszti, Katalin Éva Gyenesei, Loránd Olivér Kovács, Antónia Marcsik, László D. Szabó, Krisztián Kiss, Kitti Köhler, Zsuzsanna K. Zoffmann, Tamás Szeniczey, Tamás Hajdu</i>	102396	
<b>Tuberculosis in mummies – New findings, perspectives and limitations</b> <i>Albert Zink, Frank Maixner, Heidi Yoko Jäger, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Ildikó Pap</i>	102371	
<b>Hit or miss - A metagenomic evaluation of intra-bone variability of host pathogen load in tuberculosis-infected human remains</b> <i>Heidi Y. Jäger, Daniel Atz Zanotelli, Frank Maixner, Nicole Nicklisch, Kurt W. Alt, Harald Meller, Ildikó Pap, Ildikó Szikossy, György Pálfi, Albert R. Zink</i>	102392	
<b>EVOLUTIONARY HISTORY OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS USING LARGE AND PUBLIC GENOME DATASETS</b>		
<b>Towards the reconstruction of a global TB history using a new pipeline "TB-Annnotator"</b> <i>Gaetan Senelle, Muhammed Rabiu Sahal, Kevin La, Typhaine Billard-Pomares, Julie Marin, Faiza Mougari, Antoine Bridier-Nahmias, Etienne Carboneille, Emmanuelle Cambau, Guislaine Refrégier, Christophe Guyeux, Christophe Sola</i>	102376	
<b>More than one millennium (2nd-16th century CE) of the White Plague in the Carpathian Basin – New cases, expanding knowledge</b> <i>Krisztián Kiss, Marianna Bálint, Anett Gémes, Antónia Marcsik, Áron Dávid, Sándor Évinger, Péter Gróf, Dániel Gróh, Katalin Éva Gyenesei, István János, Barbara Kolozsi, Loránd Olivér Kovács, Orsolya Mateovics-László, Csilla Líbor, Mónika Merczi, Erika Molnár, Csilla Emese Németh, György Pálfi, Ágota Perémi, Zsófia Rácz, Olga Spekker, Béla Miklós Szőke, István Zsolt Tóth, Zoltán Tóth, Tamás Hajdu, Tamás Szeniczey</i>	102387	
<b>The first probable case with tuberculous meningitis from the Hun period of the Carpathian Basin – How diagnostics development can contribute to increase knowledge and understanding of the spatio-temporal distribution of tuberculosis in the past</b> <i>Olga Spekker, Luca Kis, Nikolett Lukács, Eszter Patyi, Balázs Tihanyi</i>	102372	
<b>Probable cases of tuberculosis in Early Medieval pastoralists of Eastern Europe</b> <i>Alexandra Buzhilova</i>	102365	
<b>"Tuberculosis on the spot" – Discussion of a probable sternal tuberculosis from a late medieval cemetery from Hungary</b> <i>Csilla Líbor, Tamás Hajdu, Tamás Szeniczey, Loránd O. Kovács, László Kunos, Orsolya Mateovics-László</i>	102410	
<b>DECIPHERING THE EVOLUTION OF TUBERCULOSIS: WRITTEN SOURCES, ANCIENT HUMAN REMAINS AND BIOMOLECULES</b>		
<b>Tuberculosis before and after the Black Death (1346–1353 CE) in the Hospital of St John the Evangelist in Cambridge, England</b> <i>Jenna M. Dittmar, Piers D. Mitchell, Sarah A. Inskip, Craig Cessford, John E. Robb</i>	102401	
<b>Changes in mortality by tuberculosis in non-industrialized Coimbra (Portugal): Trends between 1861 and 1914</b> <i>Ana Luisa Santos, Bruno M. Magalhães, Cinzia Roggio</i>	102394	
<b>Dynamics of tuberculosis infection in various populations during the 19th and 20th century: The impact of conservative and pharmaceutical treatments</b> <i>K.L. Holloway-Kew, M. Henneberg</i>	102389	
<b>Activity induced worsening of a tuberculous process in the vertebral column of a Late Bronze Age female from Liushui, Xinjiang (China)?</b> <i>Michael Schultz, Jeannine Missbach-Guentner, Mayke Wagner, Pavel Tarasov, Julia Gresky, Tyede H. Schmidt-Schultz</i>	102370	
<b>Bioarchaeological and molecular evidence of tuberculosis in human skeletal remains from 18th-19th century orthodox cemeteries in Irkutsk, Eastern Siberia</b> <i>Natalia Kharlamova, Oleg Ogarkov, Ivan Berdnikov, Natalia Berdnikova, Ravil Galeev, Igor Mokrousov</i>	102368	
<b>The paradoxes of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> molecular evolution and consequences for the inference of tuberculosis emergence date</b> <i>R. Zein-Eddine, F. Hak, A. Le Meur, C. Genestet, O. Dumitrescu, C. Guyeux, G. Senelle, C. Sola, G. Refrégier</i>	102378	
<b>Towards a better understanding of the long-lasting evolutionary history of <i>Mycobacterium tuberculosis</i></b> <i>Gaetan Senelle, Christophe Guyeux, Guislaine Refrégier, Christophe Sola</i>	102374	

#### 4. kép: Pálfi G, Dutour O, Hajdu T, Sola C, Zink A (Eds.): Paleopathology and Evolution of Tuberculosis, Tuberculosis Volume 143, Supplement Issue, December 2023 – Szerkesztői előszó.

Tuberculosis 143 (2023) 102428



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

## Tuberculosis

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/tube](http://www.elsevier.com/locate/tube)



---



### Paleopathology and evolution of tuberculosis editorial

---

A quarter of a century after the first International Conference on the Evolution and Paleoepidemiology of Tuberculosis ('ICEPT', 1997, Szeged, Hungary, [1]) and ten years after 'ICEPT-2' [2], 'ICEPT-3' – a new international TB evolution meeting – was held in Szeged, Hungary, and was hosted by the Institute of Biology, University of Szeged. This third conference again reviewed the latest results of research on TB evolution and TB paleopathology. Due to the difficulties caused by the COVID-19 pandemic, 'ICEPT-3' was organized in a hybrid form, which has permitted the participation of more than a hundred scholars from all over the world and has resulted in a rich scientific program (<https://www2.bio.u-szeged.hu/icept-3/doku.php>).

The main questions of ICEPT-3 are the same as at the two previous events: *What is the oldest evidence of this infection on human and animal remains? Where and when did this infection appear? How did TB spread all over the world? When did specific mutation(s) of the modern strains arise? What was the relative importance of the different pathogenic species of the Mycobacterium genus in past populations? Did the pre-contact American TB differ from the Old World infection? How can we explore the dynamics of the host-pathogen co-evolution in the case of TB infection? Can we reconstruct a consensual phylogeny of the Mycobacterium genus? What do we know about the evolution of susceptibility/resistance patterns among human populations? How can paleopathology and paleomicrobiology contribute to the research of TB evolution? What are the main strategies to stop or moderate the re-emergence of TB? How can molecular phylogenetics contribute to the global fight against TB?* The most up-to-date answers to these questions are provided in this Supplement issue of *Tuberculosis*, which gathers the results of the 2022 'ICEPT-3' TB meeting.

The first section of this Supplement issue is dedicated to the memory of Professor David Ernest Minnikin, an outstanding scholar of TB evolution and a well-known pioneer in the field of mycobacterial research, who died in 2021 [3]. In the first two articles, the authors commemorate his outstanding work and the remarkable findings which have enriched both the modern and ancient mycobacterial research community (Lee et al., Váradi et al.). The following two papers are about essential ancient TB research results with active contributions by Professor Minnikin: the discovery and analysis of paleopathological and paleomicrobiological traces of TB infection in Neanderthal remains (Pálfi et al., Lee et al.). These results are of great importance for our knowledge of the evolution of tuberculosis, and these studies are closely related to the subjects of the articles that follow.

Eight papers of the next TB paleopathology section present hard evidence of the disease from the Upper Paleolithic period till the Late Middle Ages. Coqueugnot et al. have used palaeoimaging methods to analyse the skeletal lesions observed on material from the Azilian site of Les Iboussières (France), dated to the Final Upper Palaeolithic. This new

study reveals that tuberculosis infection is the most likely diagnosis, if not the only one, pending molecular confirmation. While molecular phylogeny has shown that the Upper Palaeolithic is indeed a key period for the emergence of MTBC strains, palaeopathology has made little contribution to this demonstration. Various hypotheses explaining the rarity of palaeopathological cases of tuberculosis in the pre-Neolithic periods are presented in Dutour's paper. For the Early Neolithic, the skeletal remains of a child dating from the 7th-early 6th millennium BP, discovered in Cyprus, show alterations suggestive of tuberculosis and constitute the oldest evidence of tuberculosis infection in the Mediterranean islands (Le Mort et al.). Many published and recently discovered cases of prehistoric TB, from the Neolithic to the Bronze Age Central Carpathian Basin, were presented by Gémes et al. At the same time, Kiss et al. introduce the reader to the rich paleopathology of tuberculosis from the same geographical area but from more recent archaeological periods. The first reported ancient TB case from the Hun period of the present-day territory of Hungary gives us invaluable information about the spatio-temporal distribution of the disease in the past (Spekker et al.). Two anthropological collections of the 8-9th century AD from the forest-steppe area of southern Eastern Europe have been the subject of analysis of the osteo-articular alterations concerning tuberculosis-related bone lesions (Buzhilova), while a probable late medieval case of sternal TB is discussed by Libor et al.

Articles of the fourth, multidisciplinary section present very different approaches to TB evolution studies: medical historical analyses, mummy studies, paleomicrobiological/paleogenomical analyses complete the field of skeletal paleopathology. By studying skeletal remains from the XIVth century from the Hospital of St John the Evangelist in Cambridge, Dittmar et al. show that more women had TB than men, thus raising exciting discussions about gender differences in TB before and after the Black Death period and suggesting that TB infection may have been a contributing factor for women for TB entry into the charitable hospital.

Mortality from tuberculosis is also well documented in historical records from the 19th and 20th centuries. These data can be used to examine the decline in mortality before and after the antibiotic era in Europe, America, Asia, and Africa (Holloway-Kew and Henneberg). In Europe and the United States, the results showed a sharp decline in tuberculosis mortality before the introduction of antibiotics in 1946, in contrast to other regions of the world, highlighting the positive effect of improved living conditions and public health. In non-industrialised Portugal, historical data (Coimbra municipal cemetery in Conchada) showed that the number of deaths due to tuberculosis increased at the turn of the centuries (1861–1914), leading to the hypothesis of demographic growth, with a deterioration in living conditions or changes in the virulence of strains or host immunity (Santos et al.). A Late Bronze

<https://doi.org/10.1016/j.tube.2023.102428>  
Received 26 October 2023; Received in revised form 31 October 2023; Accepted 2 November 2023  
Available online 25 November 2023  
1472-9792/© 2023 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Age skeleton showing traces of Pott's disease from Liushui, Southern Silk Road, Xinjiang (China) was analysed by Schultz et al., using morphological and biochemical methods. The bacterial protein Ag85 and, for the first time in archaeological skeletal remains, also ESAT-6 was detected, which are typical for *Mycobacterium tuberculosis*. In the study by Kharlamova et al., the skeletal remains from the 18th – early 19th-century Orthodox cemeteries in Irkutsk, Eastern Siberia, were tested, for tuberculosis-associated morphological alterations and *Mycobacterium tuberculosis* DNA. The review by Zink et al. presents and discusses the main findings about the presence of TB infection in 18th-century natural mummies from Vác, Hungary, and the current status of detection of MTB complex DNA in mummified human remains. Jäger et al. applied a comparative metagenomic approach on samples from a Neolithic skeleton from Germany and 18th-century Hungarian church mummies to understand the intra-bone variability of ancient *Mycobacterium tuberculosis* DNA.

The last section deals with the importance of Whole-Genome-Sequencing, on molecular clock estimates, and population-based genomic variation analysis to reconstruct TB History. Recent results obtained using a new pipeline, “*TB-Annotator*” that integrates genomic comparison on SNPs, region of deletions, gene content and Insertion Sequences are presented. This pipeline achieves much more resolute discriminative power than existing ones, raising opportunities to unravel new and rare lineages through genome comparison (Senelle et al.). The very concept of the molecular clock and its limits are discussed in a quest to date tuberculosis emergence and the “paradoxes of MTB evolution” are raised (Zein-Eddine et al.). Finally, Senelle et al. present results on lineages 4.5, 4.7, 6, and 7, obtained with *TB-Annotator*, showing that a delicate and precise evolutionary history is likely to be reconstructed for each lineage. Questions about the origins and spread of tuberculosis in the past are addressed, in addition to biological and genetic topics and epidemiological problems of more recent periods.

We are convinced that the study of ancient and modern TB through an interdisciplinary approach as presented in this Supplement, including findings from paleopathology to molecular evolution research, offers the best potential to significantly improve our knowledge of TB and its continuing evolution. This issue represents a small yet significant contribution to the global effort to reduce and hopefully eradicate TB infections worldwide. We sincerely believe that by reading this TB Paleopathology and Evolution Supplement, the ordinary reader will get a comprehensive picture of the issues related to the past of tuberculosis, while people studying tuberculosis evolution will be equipped with a reliable basis for further research.

Szeged–Bordeaux–Budapest–Paris–Bolzano, 2023.

The Guest Editors

#### Author contribution statement

György Pálfi: Conceptualisation, Writing, Original draft, Project

administration, Funding acquisition.

Olivier Dutour: Conceptualisation, Writing, Original draft.

Tamás Hajdu: Conceptualisation, Writing, Original draft.

Christophe Sola: Conceptualisation, Writing, Original draft.

Albert Zink: Conceptualisation, Writing, Original draft.

#### Declaration of competing interest

None.

#### Acknowledgements and Transparency declaration

This article is part of a supplement entitled “*Paleopathology and Evolution of Tuberculosis*” - *Conference Proceedings from the 3rd International Congress on the Evolution and Paleoepidemiology of Tuberculosis (ICEPT-3)* published with support from the K 125561 (“Tuberculosis and Evolution”) research grant of the National Research, Development and Innovation Office (NKFIH - Hungary) and the Department of Biological Anthropology, University of Szeged, Hungary. The Guest Editors are particularly grateful for all support.

#### References

- [1] Pálfi G, Dutour O, Deák J, Hutás I, editors. *Tuberculosis: past and present*. Budapest: TB Foundation, Szeged & Golden Book Publisher; 1999. p. 608.
- [2] Pálfi G, Dutour O, Perrin P, Sola C, Zink A, editors. Supplement issue: tuberculosis in evolution. *Tuberculosis (edinburg)*, vol. 95; 2015. Supplément 1 - juin 2015, P. S1-S216. <https://www.em-consulte.com/revue/YTUBE/95/S1/>.
- [3] Goodfellow M, Sutcliffe IC. In memoriam – David Ernest Minnikin (1939–2021). *Int J Syst Evol Microbiol* 2021 Nov 5;71(11):005093. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005093>.

György Pálfi\*

Department of Biological Anthropology, University of Szeged, Szeged, Hungary

Olivier Dutour

Ecole Pratique des Hautes Etudes - PSL University Paris, UMR 6034 Archéosciences Bordeaux, CNRS, Université Bordeaux Montaigne - 33607 Pessac Cedex, France

Tamás Hajdu

Department of Anthropology, Eötvös Loránd University, Budapest, Hungary

Christophe Sola

Université Paris-Saclay, Université Paris-Cité, IAME, UMR 1137, INSERM, 91190, Gif-sur-Yvette, Paris, France

Albert Zink

Institute for Mummy Studies, Eurac Research, Italy

\* Corresponding author.

E-mail address: [palfigy@bio.u-szeged.hu](mailto:palfigy@bio.u-szeged.hu) (G. Pálfi).