

## **Dr. Gyuranecz Miklós**

### ***A brucellózis és a Q-láz járványtanának vizsgálata***

című MTA Doktori értekezésének hivatalos bírálata

Dr. Gyuranecz Miklós (a továbbiakban a Jelölt) két témakör, a brucellózis és a Q-láz részben hazai, részben nemzetközi járványtani vizsgálataival kapcsolatos 2011 és 2016, illetve 2012 és 2015 között publikált munkáira alapozva nyújtotta be értekezését. A mű témaválasztásának időszerűségéhez, hazai és nemzetközi jelentőségéhez kétség sem fér. Úgy a brucellózis, mint a Q-láz az állatgyógyászat és -járványtan kiemelkedően fontos problémái mellett, hogy mindkettő jelentős humánegészségügyi gondot is jelent úgy külföldön (brucellózis), mint, egyre inkább felismerve, itthon is (Q-láz).

A témaválasztással kapcsolatban a Jelölt a dolgozat Bevezetésében szokatlan állítást tesz, miszerint „legjelentősebb tudományos eredményeim az utóbbi évek mycoplasmatológiai kutatásaiból származnak”. A Jelölt által adott magyarázat, miszerint „nem szeretné elvenni PhD hallgatói elől” ezeket az eredményeket véleményem szerint félreértésen alapul: egyrészt az MTA doktori címre pályázótól elvárt az iskola teremtés és témavezetői tevékenység, másrészt az eredmények „kétszeri elszámolásának” tiltása saját „elszámolásra” vonatkozik. Arról nem is beszélve, hogy egy PhD hallgató és témavezetője esetén alapvetően más az eredményekhez való hozzájárulás természete, tartalma. Tekintve azonban, hogy az MTA Doktori Szabályzata explicite nem tiltja, hogy a Jelölt saját megítélése szerint nem a legjelentősebb eredményei alapján szerkessze meg az MTA Doktori értekezését, ezt a tény, bár szokatlannak tartom, és remélem, hogy széles körben nem terjed el, a pályázat értékelésekor nem vettem figyelembe.

A Jelölt értekezését „önállóan készített értekezés” formában nyújtotta be. A mű 106 számozott oldalt, a Tartalom és Rövidítések után egy rövid Bevezetést, majd a brucellózissal és a Q lázzal foglalkozó 6 és fél, illetve 5 és fél oldalas Rövid Irodalmi Áttekintést tartalmaz, melyet 9 oldalon követ az alkalmazott módszerek bemutatása. A brucellózissal kapcsolatos eredményeit 7 alfejezetben, 37 oldalon, míg a Q lázzal kapcsolatosakat 5 alfejezetben, 18 oldalon mutatja be. Az új tudományos eredményeket és a mű alapjául szolgáló 12 közlemény felsorolását a 161 hivatkozást tartalmazó Irodalomjegyzék, Köszönetnyilvánítás követik, végül a művet a két táblázatot tartalmazó Melléklet zárja.

A munka technikailag az elvárható gondossággal kivitelezett, egy-egy esetben a fajnevek intalicizálásának elmaradása (főleg az ábrák aláírásánál) alapvetően nem zavarja meg a mű olvashatóságát. Egy kissé tagoltabb prezentáció ugyanakkor nem ártott volna, az egyes alfejezetek számozása, a releváns közlemények megjelölése, az alfejezetek, pláne a két altéma

(brucellózis és Q láz) önálló oldalon való kezdése biztosan nem növelte volna jelentősen a terjedelmet, de egy jobban tagolt, jobban áttekinthető művet eredményezett volna.

Bár e tekintetben a Doktori szabályzat specifikusan nem rendelkezik, a mű terjedelme elmarad az „önállóan készített értekezés” -ek esetén megszokottól. E bírálóban ez főleg a néha tankönyvszerűen tömör Irodalmi áttekintésnél, különösen a brucellózis és Q láz járványtanáról szóló részeknél hagyott hiányérzetet, amit csak részben enyhítettek az egyes altémákat megelőző Bevezető szakaszok. Mindezzel együtt afelől nem maradt kétség (és az Irodalmi áttekintésnek ez az egyik legfontosabb célja), hogy az elvégzett vizsgálatok mindenképpen indokoltak, időszerűek és relevánsak voltak.

Az Anyagok és Módszerek bemutatása szintén tömör, de itt ez előnye a dolgozatnak. Az eljárások bemutatása tartalmazza mindazokat az információkat, melyek alapján megítélhető, hogy az módszerek alkalmasak a keresett válaszok megadására. Tekintve, hogy a mű legalább 5-6, de sokszor több évvel ezelőtt lezárt vizsgálatok eredményeit foglalja össze, így nyilván nem kérhető számon az akkor a brucellákra még nem alkalmazott WGS/cgMLST alapú tipizálás. Az alkalmazott módszerek az akkor (5-8 évvel ezelőtt) rendelkezésre álló legmodernebb eljárások voltak és a műből nyilvánvaló, hogy a szerző pontosan tisztában van azok technikai részleteivel, előnyeikkel, korlátaikkal.

Az eredmények bemutatása során az azok alapjául szolgáló közleményeket ismerteti a jelölt, egy rövid Bevezetés, Eredmények, Megbeszélés tagolásban. A bemutatott ábrák és táblázatok informatívak, érthetőek. Általánosságban, az eredmények prezentálása logikus, értékelésük, sokszor kritikai, az esetleges hiányosságokra rámutató értékelésük nem hagy kétséget afelől, hogy a vizsgálatok tudatos gondolkodás, a probléma és a szakirodalom alapos ismerete alapján kerültek megtervezésre, az eredmények jelentőségével, hasznával és korlátaival a Jelölt pontosan tisztában van.

Összességében számomra nem világos, hogy a Jelölt miért nem választotta, a Doktori Szabályzat által lehetővé tett, a részletes irodalmi áttekintést követően az eredményeket tételesen összefoglaló rövid értekezést, amihez csatolta volna az eredeti közleményeket. Véleményem szerint a „teljes értekezés” forma akkor választandó, ha a jelölt vállalkozik egy valóban nagyívű, a munkásságát összefoglaló részletes tudományos doktori mű létrehozására. Itt spórolós, hibrid megoldást látunk, bár az tény, hogy a benyújtott mű végül is alkalmas az elvégzett munka tartalmi értékelésére.

## Új tudományos eredmények:

1. A mezei nyulak brucellózisának vizsgálata során több száz nyúl vérének vetették szerológiai vizsgálat alá. Az öt szeropozitív állat esetén részletes kórbonctani vizsgálatokat végeztek és kitenyésztették a kórokozót. Kifejlesztettek egy *B. suis* specifikus immunhisztokémiai eljárást melyet sikerrel próbáltak ki a mintákon.
2. *B. ovis* esetén igazolták, hogy a korábban immobilisnak tekintett IS711 valójában képes a transzpozícióra a vizsgált esetben az *omp31* gén promóter régiójába inzertálódva, az OMP31 fehérje kifejeződését megakadályozva.
3. 2008 októbere és 2009 augusztusa között egy kennelel 31 kutyáját vizsgálták szerológiai, mikrobiológiai, molekuláris biológia, kórbonctani és hisztopatológiai módszerekkel. Ennek kapcsán először írták le a *B. canis* hazai jelenlétét, és részletes klinikai, kórbonctani leírását adták a kutyák betegségének.
4. A fenti járvány 8, különböző kutyákból származó izolátumainak részletes molekuláris vizsgálata során igazolták a faj rövid távú, gazdaszervezeteken belüli változásait és elemezték az alkalmazott MLVA eljárás ilyen célú kutatásokra történő alkalmazhatóságát.
5. Elsőként izoláltak hazánkban *B. microti* -t és először mutatták ki a fajt vaddisznóban. Összehasonlítva az izolátumot a környező országokban egyéb fajokból származó törzsek molekuláris mintázatával.
6. 68, sertésből, vaddisznóból és mezei nyúlból származó *B. suis* 2 törzs részletes genetikai analízise és más országokból származó izolátumokkal történő összevetése során megállapították, hogy ez a biotípus elsősorban a nyulakhoz adaptálódott. A vaddisznó eredetű törzsek Európában elsősorban földrajzi elhelyezkedésük alapján mutatnak rokonságot, míg a sertések törzsei úgy a mezei nyúlból, mint a vaddisznóból származó törzsekkel rokonságban állnak azt sugallva, hogy a sertések fertőzésében mindkét vadon élő faj szerepet játszhat.
7. Elsőként végezték el az egyiptomi tevé *B. melitensis* törzseinek részletes genetikai vizsgálatát az Egyesült Arab Emírátsokban megállapítva, hogy a populáció nem egységes. Részletes molekuláris tipizálással legalább két irányból történő (afrikai és kelet-mediterrán régióból történő) behurcolást valószínűsítettek.
8. Meghatározták különböző hazai tejmintákban a *C. burnetti* DNS -ének előfordulási gyakoriságát, illetve tejtermelő állatokban a kórokozóra fajlagos antitestek jelenlétének prevalenciáját, gyakorlatilag az állatállomány átfertőzöttségének mértékét.
9. Viszonylag kis mintaszámot (11 állati és egy humán eredetű mintát) vizsgálva is igazolni tudták a hazai *C. burnetti* törzsek genetikai sokféleségét, leírtak egy új szekvencia típust és két új MLVA genotípust

10. Etiópai szarvasmarhákból származó kullancsokban új *C. burnetti* szekvencia típust és két új genotípust mutattak ki.
11. Egy jelentős méretű hazai Q láz járvány diagnosztikai, és részben molekuláris tipizálás révén történő feldolgozását végezték el, és a járvány okozójaként egy ST18 es szekvencia típusú törzset azonosítottak.
12. Megállapították, hogy míg a hazai juh állományban a *C. burnetti* fertőzés jelentős, a szarvasmarha állományban kevésbé jelentős oka lehet a vetelésnek.

#### A kérdéseim a következők:

1. A *B. canis* specifikus savó előállításakor a savó „pozitív” eredményt adott *B. ovis* -szal szemben is. Volt-e titer különbség a két fajjal szemben? Mi lehet a keresztreakció alapja? Próbálták-e az immunsavót *B. ovis*-szal kimeríteni?
2. Hol helyezné el a kidolgozott immunhisztokémiai eljárásukat a szerológia – tenyésztés – molekuláris kimutatás diagnosztikus panel tagjaihoz képest, mikor javasolná a kidolgozott eljárást, az egyéb diagnosztikai lehetőségekhez képest milyen sorrendben?
3. A szerzővel egyetértve az alacsony (5, tenyésztéssel konfirmált állat) esetszám tekintetében, a kérdés, hogy a közlemény óta eltelt időben sikerült-e nagyobb esetszám vizsgálatával validálni a módszert?
4. Mi magyarázhatja, hogy míg az Omp31 elvesztése egyes fajok esetén attenuációhoz vezet (*B. melitensis*, Verdiguél-Fernández, L. et al.2020 J Microbiol Biotechnol 30(4):497-504.), a *B. ovis* esetén úgy tűnik, alapvetően nem befolyásolja a virulenciát?
5. Amennyiben a Omp31 a *B. ovis* ellenes vakcina fejlesztés elsődleges cél-antigénje, ezt a fehérjét ki nem fejező, de fertőző képességét megtartott változat vajon nem jelenti-e egy ilyen védőoltás korlátozott alkalmazhatóságát?
6. A tipizáló eljárások egyik, ha nem legfontosabb szerepe annak megállapítása, hogy két izolátum hasonló-e olyan mértékben, hogy egymással járványtani kapcsolatban állhatnak-e. A szerzővel egyetértve az alkalmazott MLVA módszer, érzékenysége okán inkább alkalmas a rövid tér-, és időintervallumok során kialakuló változások detektálására, mint a fenti célokra. Milyen módszert javasolna a *B. canis* esetén tényleges járványtani kapcsolat (pl. két kennelel esetei közötti kapcsolat) felderítésére?

7. Gondoltak-e arra, hogy egy mintából egyidőben izolált különböző *B. canis* telepeket összehasonlítsanak MLVA módszerrel az adott gazdában egyidőben fellelhető variánsok detektálására?
8. Azt találták, hogy a hazai nyúl és vaddisznó eredetű *B. suis* 2-es törzsek két, élesen elkülönülő csoportot alkottak. A szerzők is felvetik a megbeszélésben, hogy egyes törzsek sokkal inkább a nyulakhoz adaptálódtak. Mi lehet ennek a biológiai, a gazdaparazita kölcsönhatást érintő alapja?
9. Az európai vaddisznóból származó törzsek elsősorban földrajzi eredtük alapján csoportosultak, míg, ha jól értettem, hasonlóan a hazai törzsek esetén nem figyeltek meg („Sem időbeli, sem földrajzi összefüggéseket nem találtunk a magyar vaddisznó és sertés eredetű törzsek genetikai vizsgálata során”). Mi lehet az európai és hazai adatok eltérésnek az oka? Eltérő vadgazdálkodás?
10. Ismert-e, hogy a tevékben leírt genotípusok megjelennek-e a helyi, emirátusi, vagy a nagyobb régió humán eseteiben is, akár a vizsgálat óta eltelt időben?
11. A tejmintákban PCR-rel talált magas *C. burnetti* DNS arány nyilván jelzi az állatállomány magas átfertőzöttségét. Egyáltalán nem megkérdőjelezve az eredmény közegészségügyi fontosságát, de jelenti-e ez ugyan ilyen mértékben az emberi átvitel lehetőségének magas szintjét is? A DNS jelenléte milyen mértékben jelenti fertőzőképes kórokozó jelenlétét pl. pasztőrözött mintában, illetve milyen gyakoriak a tejjel emberre átvitt fertőzések?
12. A kullancsok által emberre történő átvitelt általában nem tekintjük a Q láz terjedése elsődleges módjának. A szarvasmarháról származó kullancsok közötti viszonylagos gyakori pozitívitas (296 kullancsból 32 pozitív, >10%) jelenti-e azt, hogy ez a terjedési mód fokozottabb jelentőséggel bír az állatok között?
13. Jelenleg a humán mikrobiológiában a Q láz laboratóriumi diagnosztikája jórészt referencia laboratóriumokban történik. Tapasztalati alapján mi lenne az a diagnosztikus eszköztár, ami reálisan elvárható egy nagyobb kórházi laboratóriumtól?
14. Az a tény, hogy szarvasmarhákban a magas Ct érték alacsony kórokozó számot feltételez, illetve magyarázhatja e fajban a fertőzés jellemzően szub-klinikai lefolyását,

jelentheti-e ez egyben azt is, hogy a fertőzött szarvasmarhák kisebb rizikót jelentenek emberi fertőzések forrásaként, mint pl. a fertőzött juhok vagy kecskék?

**Összefoglalva:** egy értékes munka összegzését volt módomban megismerni. Bár szívesebben vettem volna a téma, az Akadémiai Doktori disszertációktól megszokott nagyobb ívű kifejtését, a mű alkalmas annak megítélésére, hogy az számos, fentebb felsorolt új tudományos eredményt tartalmaz, melyeket a jelölt saját, jelentős tudományos eredményeként ismerek el. A jelenlegi, a hazai brucellózis és Q láz járványtanával kapcsolatos ismereteink számottevő része a jelölt munkájának eredménye, és ezek közül több nemzetközi összehasonlításban is figyelemre méltó.

A jelölt disszertációjának nyilvános vitára való bocsájtását javaslom és támogatom.



Pécs, 2020 december 22.

Dr. Pál Tibor

Hivatalos bíráló  
az MTA doktora