

MTA doktori értekezés tézisei

Mikrobiális genomikai vizsgálatok: a metagenomtól az
antimikrobiális rezisztencia-potenciálig

Solymosi Norbert

Budapest, 2025

Bevezetés

A mikroorganizmusok megismerésében a mikroszkóp, a tenyésztési és egyéb hagyományos módszerek nagyon fontosak voltak és valószínűleg maradnak. Ugyanakkor e modellvezérelt megközelítés mellett napjaink nagy áteresztőképességű technológiai lehetővé teszik az adatvezérelt ismeretszerzést ezen a területen is. Mivel az előző esetén hipotézis(ek) alapján vizsgálódunk a mikrobiótáról rajzolt képünk szükségszerűen töredékes. Utóbbi irány esetén nem korlátozza a kutatót a célzottsággal járó sokféle (pl. tenyésztési) sajátosság figyelembevételének szükségessége.

Jelenünkben az új- és harmadik generációs szekvenálás alapvetően járul hozzá biológiai, orvosi ismereteink gyarapításához. Az e technológiák által generált nagy adathalmazok bioinformatikai feldolgozása fontos, a klasszikus mikrobiológiai eszköztárat támogató, kiegészítő megközelítés. A mikrobiális genomika az összetett mikrobióta részletes taxonómiai leírása, kórokozók azonosítása mellett lehetővé teszi a genomok, genomrészletek szerkezetének vizsgálatát is. Egyebek mellett gének, köztük antimikrobiális rezisztenciagének (ARG), illetve azoknak a baktériumok között horizontális géntranszfer útján való átadását meghatározó mobilis genetikai elemek (MGE) elemzését.

Dolgozatomban e területen végzett munkám fontosabb eredményeit foglaltam össze. Mézelő méhek és *Ixodes ricinus* kullancsok metagenomját követően ARG-kkel kapcsolatos kutatásokat mutatok be. Először olyan állatokhoz kapcsolható források rezisztomjára és mobilomjára vonatkozókat, amelyekből az emberi szervezetbe ARG-t hordozó baktériumok juthatnak. Zárásként pedig a rezisztom klinikai értelmezési, alkalmazhatósági lehetőségeihez gyakorlati támpontot jelentő összehasonlító statisztikáinkat írom le.

Célkitűzések

A bemutatott munkáink során különböző mikrobiológiai kérdésekre nagy áteresztőképességű szekvenálással generált adatok genomikai elemzésével kerestünk válaszokat. Saját vizsgálatainkból és mások eredményeiből is láttuk, hogy a mikrobiom nagy változatosságot mutat még egészséges állatokban, emberekben is. Ugyanakkor ahhoz, hogy az egészségestől való eltéréseket értékelhessük, szükséges lenne az egészséges állapot természetes variabilitásának ismerete. Mivel a mézelő méhek (*Apis mellifera*) bélmikrobiótáját aránylag kis számú mikroorganizmus alkotja, és e fajjal kapcsolatban már korábban is végeztünk epidemiológiai vizsgálatokat, valamint rendkívüli ökológiai/gazdasági szerepet játszó, de ugyanakkor az utóbbi években jelentős pusztulásoknak kitett háziállat, a kérdés tanulmányozásához megfelelő modellállatnak találtuk. A mézelőméhbélbakteriom természetes variabilitásának vizsgálata céljából országos, klimatikusan reprezentatív, ismételt mintavételezésen alapuló felmérést végeztünk.

Epidemiológiai elemzéseket végezve számos ízeltlábú vektorral, vektor-közvetítette fertőző betegséggel kapcsolatos kutatásban vettem részt. Mivel a klímaváltozás következtében ezek a betegségek egyre gyakrabban, egyre nagyobb területen fordulnak elő, e vektorok mikrobiom-kutatása is hangsúlyosabbá vált. Országos, klimatikusan reprezentatív mintavételre alapozott felmérés során gyűjtött *Ixodes ricinus* kullancsok metagenomikai vizsgálatát végeztük a fejlődési állapotok és klimatikus környezet szerinti bakteriomprofil leírása céljából.

A profilvizsgálat mellett mind a mézelő méhek, mind a kullancsok metagenomelemzéseiben a mintákban jelenlévő, esetleg kórokozó organizmusok keresése is célunk volt.

Annak a pontosabb ismerete, hogy az ARG-k, az azokat hordozó baktériumok honnan és hogyan kerülhetnek ez emberi szervezetbe, fontos lehet az AMR elleni küzdelemben. Korábbi metagenomikai munkánk során vizsgáltuk a sertésbelsőrában lévő baktériumok rezisztomját. Az ottani eredmények inspirálták olyan, állatokhoz köthető ARG-források vizsgálatát, amelyekből ARG-hordozó baktériumok kerülhetnek az emberi szervezetbe. Ebből a célból rezisztom-, és mobilomvizsgálatokat végeztünk nyerstej-, probiotikus tejtermék-, probiotikum-, probiotikus, illetve kullancs-terjesztette baktériumtörzs-, és kutyanyal-minták felhasználásával. A nyers tej és probiotikus tejtermékek eredményei irányították figyelmünket a szilázs rezisztom-, és mobilomvizsgálatára. Hiszen a szilázs, a probiotikus tejtermékekhez hasonlóan erjesztéssel készül, így a fogyasztásával nagy mennyiségű baktérium juthat a tejtermelő szarvasmarhák emésztőrendszerébe, onnan más szerveikbe, így akár emberi fogyasztásra szánt élelmiszerekbe is.

A rezisztomvizsgálataink kapcsán újra és újra felmerült a kérdés, hogy az ARG-k jelenléte hogyan értelmezhető a fenotípusos AMR vonatkozásában. A válaszhoz adatokat gyűjtendő nagyszámú *Escherichia coli* szintenyészetből származó fenotípusos és genotípusos rezisztencia eredményeket vetettünk össze.

Tézisek

1. Mézelő méhek bélmikrobiótájának vizsgálatával:

- a) Bemutattuk, hogy klinikailag egészséges mézelőméhdolgozók bélbakterióm-alkotó fajainak abundanciája szezonálisan, illetve klimatikus környezetük szerint is jelentős eltérést mutathat (1. közlemény).
- b) Metagenomikai vizsgálatok alapján a *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* hazai előfordulásával kapcsolatban mutattunk be adatokat. A kórokozó előfordulási gyakoriságában évszakos és klimatikus eltéréseket azonosítottunk. Filogenetikai elemzés alapján egy magyar szekvenencia thaiföldi, spanyolországi és hawaii mintákkal mutatta a legnagyobb szekvenciális hasonlóságot (2. közlemény).
- c) Elsőként állítottuk össze mézelő méhek fonalas vírusának teljes genomjait, hazai állományokból, melyek filogenetikai vizsgálatunk szerint svájci szekvenciához hasonlítanak legjobban (3. közlemény).

2. *Ixodes ricinus* mikrobiom-vizsgálatával:

- a) Kórokozó baktériumok azonosítása mellett, fejlődési stádiumok (nimfa, felnőtt nőstény) és a mintavétel földrajzi helyének klimatikus viszonyai szerinti bakterióm-eltéréseket mutattunk be (4. közlemény).
- b) Magyarországon elsőként azonosítottuk az *Ixodiphagus hookeri* genomszekvenciáit. A öt helyről származó parazitoid-pozitív minta közül négy földrajzi elhelyezkedése alapján egy nyugat-magyarországi klaszterre mutatunk rá (5. közlemény).

3. Tej, fermentált tejtermékek, probiotikus termékek és baktériumtörzsek vizsgálatával:

a) Emberi fogyasztásra szánt, piaci nyers tejből ARG-ket mutattunk ki metagenomikai vizsgálatokkal (6. közlemény).

b) Bemutattuk, hogy a joghurt-, és kefirtermékek, az azok előállításához használt oltókultúrák, baktériumtörzsek antimikrobiális rezisztenciagének (ARG) változatos spektrumát tartalmazzák. Rámutattunk arra, hogy az erjesztési folyamat során az ARG-ket hordozó baktériumok szaporodásával az ARG-k mennyisége is változik (7. közlemény).

c) Bemutattuk, hogy emberi fogyasztásra szánt probiotikumokban előforduló ARG-k nem elhanyagolható mértékben potenciálisan mobilisak (8. közlemény).

d) Gyakran használt probiotikus baktériumfajok rezisztom-, és mobilom-változatosságára vonatkozóan mutattunk be adatokat (9. közlemény).

4. Metagenomikai elemzés alapján elsőként mutattunk be adatokat a lucernaszilázs-rezisztomra, és -mobilomra vonatkozóan (10. közlemény).

5. Kullancs-terjesztette patogén baktériumok teljesgenomszekvenálásainak felhasználásával végzett felmérésünk alapján rámutattunk, hogy többségükben nem várt alacsony gyakorisággal fordultak elő ARG-k, míg a *Coxiella burnetii* izolátumokban az ARG-k előfordulási gyakorisága kiemelkedő a szarvasmarha-eredetű mintákban (11. közlemény).

6. Bemutattuk, hogy a kutyanyálban számos baktérium, köztük kórokozók is, nagy számú, az antibiotikumok széles spektrumának hatékonyságát negatívan befolyásoló ARG-t hordoz (12. közlemény).

7. Fenotípusos és genotípusos antimikrobiális rezisztencia összevetése alapján felvetettük a komplex mikrobiológiai háttérű kórfolyamatokból származó minták rezisztomjának antimikrobiális rezisztencia-potenciálként való értelmezési lehetőségét (13. közlemény).

A dolgozat alapjául szolgáló közlemények

1. Papp, M., Békési, L., Farkas, R., Makrai, L., Judge, M. F., Maróti, G., Tózsér, D., **Solymosi, N.**, Natural diversity of the honey bee (*Apis mellifera*) gut bacteriome in various climatic and seasonal states. *PLOS One* 17:9, e0273844, 2022
2. Papp, M., Békési, L., Farkas, R., Makrai, L., Maróti, G., **Solymosi, N.**, *Vairimorpha* (*Nosema*) *ceranae* előfordulása Magyarországon, mézelő méhek (*Apis mellifera*) bél-mikrobiom-felmérése alapján. *Magyar Állatorvosok Lapja* 146:3, 149–159, 2024
3. Papp, M., Tóth, A. G., Békési, L., Farkas, R., Makrai, L., Maróti, G., **Solymosi, N.**, *Apis mellifera* filamentous virus from a honey bee gut microbiome survey in Hungary. *Scientific Reports* 14: 5803, 2024
4. Tóth, A. G., Farkas, R., Papp, M., Haeun, Y., Makrai, L., Maróti, G., Gyurkovszky, M., Krikó, E., **Solymosi, N.**, *Ixodes ricinus* tick bacteriome alterations based on a climatically representative survey in Hungary. *Microbiology Spectrum* 11:6, e0124323, 2023
5. Tóth, A. G., Farkas, R., Gyurkovszky, M., Krikó, E., **Solymosi, N.**, First detection of *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in *Ixodes ricinus* ticks (Acari: Ixodidae) from multiple locations in Hungary. *Scientific Reports* 13: 1624, 2023
6. Tóth, A. G., Csabai, I., Krikó, E., Tózsér, D., Maróti, G., Patai, Á. V., Makrai, L., Szita, G., **Solymosi, N.**, Antimicrobial resistance genes in raw milk for human consumption. *Scientific Reports* 10: 7464, 2020

7. Tóth, A. G., Csabai, I., Maróti, G., Jerzsele, Á., Dubecz, A., Patai, Á. V., Nagy, S. Á., Makrai, L., Bányai, K., Szita, G., **Solymosi, N.**, A glimpse of antimicrobial resistance gene diversity in kefir and yoghurt. *Scientific Reports* 10: 22458, 2020
8. Tóth, A. G., Csabai, I., Judge, M. F., Maróti, G., Becsei, Á., Spisák, S., **Solymosi, N.**, Mobile antimicrobial resistance genes in probiotics. *Antibiotics* 10:11, 1287, 2021
9. Tóth, A. G., Judge, M. F., Nagy, S. Á., Papp, M., **Solymosi, N.**, A survey on antimicrobial resistance genes of frequently used probiotic bacteria, 1901 to 2022. *Eurosurveillance* 28:14, 2200272, 2023
10. Nagy, S. Á., Tóth, A. G., Papp, M., Kaplan, S., **Solymosi, N.**, Antimicrobial resistance determinants in silage. *Scientific Reports* 12: 5243, 2022
11. Papp, M., Tóth, A. G., Valcz, G., Makrai, L., Nagy, S. Á., Farkas, R., **Solymosi, N.**, Antimicrobial resistance gene lack in tick-borne pathogenic bacteria. *Scientific Reports* 13: 8167, 2023
12. Tóth, A. G., Tóth, I., Rózsa, B., Dubecz, A., Patai, Á. V., Németh, T., Kaplan, S., Kovács, E. G., Makrai, L., **Solymosi, N.**, Canine saliva as a possible source of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics* 11:11, 1490, 2022
13. **Solymosi, N.**, Tóth, A. G., Nagy, S. Á., Csabai, I., Feczkó, C., Reibling, T., Németh, T., Clinical considerations on antimicrobial resistance potential of complex microbiological samples. *PeerJ* 13: e18802, 2025