

Bírálati vélemény Dr. Solymosi Norbert „Mikrobiális genomikai vizsgálatok: a metagenomtól az antimikrobiális rezisztencia-potenciálig” című MTA doktori értekezéséről**A téma aktualitása és tudományos jelentősége**

Az antimikrobiális rezisztencia (AMR) napjaink egyik legsúlyosabb globális egészségügyi kihívása, amely közvetlen veszélyt jelent a humán- és állatgyógyászati kezelések hatékonyságára. A humán, állati és környezet hármasságában zajló kórokozó- és rezisztenciagén-transzfer vizsgálata a modern mikrobiológia és a One Health (Egy Egészség) koncepció egyik alappillére. Dr. Solymosi Norbert nagydoktori értekezése, ezen a rendkívül fontos területen mutat be paradigmaváltó megközelítést. A korszerű szekvenálási technológiákon alapuló metagenomikai és bioinformatika pipeline-ok kialakításával bevezeti a rendszerszintű szemléletet a hazai állatorvosi genomikai kutatásokban. Ez az adatvezérelt megközelítés lehetővé teszi a mikrobiális életközösségek komplexitásának - faji összetételének, rezisztenciagénjeik összességének (rezisztom) és mobilis genetikai elemeinek (mobilom) - egyidejű, nagyfelbontású feltárását.

Az értekezés szerkezeti, formai és stilisztikai kivitelezése

A 10 fő fejezetre tagolt doktori mű szerkezete logikus, egységes és követi a klasszikus tudományos értekezések felépítését. A Bevezetés tömör, ugyanakkor lényegre törő, és kiválóan mutatja be, hogy a mikrobiológiai kutatások evolúciója során miként vált szükségessé az egyre összetettebb tudományos gondolkodásmódot és az új kihívásokat lekövető modellváltás.

A szakmai nyelvezet szabatos, a bioinformatikai és mikrobiológiai terminológia használata pontos. Elírásokat elvétve találtam. A dolgozatot záró Kitekintés fejezetben a Jelölt kellő önkritikával kezeli az eredmények tudományos hatását és széleskörű gyakorlati perspektíváit, rámutat a meglévő korlátokra, és kerüli a túlzó következtetéseket. Az kiemelkedő színvonalú, impresszív ábrák pedig kiválóan segítik a komplex adathalmazok megértését.

Különösen értékes, és mély szakmai elhivatottságról tesz tanúságot, hogy az értekezést Nicolaus Cusanus és Madách Imre megismerés határaitól, valamint a szüntelen keresésről szóló filozófiai gondolatai foglalják keretbe.

Az alkalmazott módszertan értékelése

Az értekezés módszertana megfelel a nemzetközi metagenomikai kutatások követelményeinek. A szerző által kialakított bioinformatikai pipeline a legújabb szoftvereszközökre épül, és az alábbi komplex lépéssorozatból áll:

1. **Szekvenciaellenőrzés és szűrés.** Az Illumina paired-end readok egyesítése a PEAR szoftverrel történt, a minőségszűrést az Adapterremoval, TrimGalore vagy Trimmomatic programokkal végezték. A gazdaszervezet-eredetű szekvenciákat a Bowtie2 segítségével,

referenciagenomra történő illesztéssel távolították el, a szekvencia-duplikátumokat pedig VSEARCH-el szűrték.

2. **Taxonklasszifikáció.** A Kraken2 szoftvert alkalmazták, egyedi, közvetlenül az NCBI RefSeq és NT adatbázisokból lekérdezett, folyamatosan frissített referencia-adatbázisok használatával. A biostatistikai elemzések R-környezetben futottak, a phyloseq és microbiome csomagok alkalmazásával.
3. **Diverzitásvizsgálat.** Az alfa (populáción belüli)-diverzitást lineáris modellekkel, míg a béta (populációk közötti)-diverzitást PERMANOVA-val vizsgálták a vegan csomag segítségével. A differenciális abundancia-analízist a DESeq2 szoftver végezte.
4. **Rezisztom és mobilom predikció.** A *de novo* illesztés a MEGAHIT vagy metaSPAdes programokkal készült. Az ORF-eket a Prodigal szoftver prediktálta, az aminosav-szekvenciákat a Resistance Gene Identifier (RGI) illesztette a CARD adatbázis rezisztenciagénjeihez, illetve a ResFinder szoftvert alkalmazták. A mobilitás igazolására a PlasFlow és VirSorter2 szoftvereket használták.

Mindezek alapján kijelentem, hogy az értekezésben bemutatott vizsgálati eredmények módszertanilag helytállóak.

A tudományos eredmények fejezetenkénti értékelése: nívumok és kritikai megjegyzések

A dolgozatban bemutatott eredmények a mikrobiális diverzitás és az antimikrobiális rezisztencia determinánsok metagenomikai analízisére épülnek. Az Egy Egészség keretrendszer releváns pontjainak – méh, kullancs, kutyaanyál, nyerstej/probiotikus tejtermék, szilázs – elemzése számos elsőként leírt tudományos nívumot tár fel.

1. Mikrobiom vizsgálatok

A mézelőméh-dolgozók bélbakteriomjának természetes variabilitását vizsgáló országos, klimatikusan és szezonálisan reprezentatív felméréssel bemutatta a környezet és a szezonális hatásait a bélmikrobita diverzitására. A *Vairimorpha ceranae*-eredetű readok abundanciája alapján felmérte a vizsgált állományok fertőzöttségének klimatikus és évszakos változásait. Különösen jelentős eredmény az első, hazai mintákból származó *Apis mellifera* fonalas vírus (*AmFV*) teljes genomok összeállítása és genetikai diverzitásának jellemzése.

A köz- és állategészségügyi szempontból kiemelt jelentőségű kullancs-mikrobiom kutatásokban elért eredményei szintén jelentős újdonságértékkel bírnak. Hazai *Ixodes ricinus* nimfa és imágó (nőstény) fejlődési stádiumok bakteriomjának összehasonlításával szignifikáns abundancia-különbségeket mutatott ki olyan kullancs-asszociált nemzetségek vonatkozásában, mint az *Arsenophonus*, *Candidatus Midichloria* és *Wolbachia*. Ezen eredményekből kiindulva Magyarországon elsőként sikerült genomikai módszerekkel igazolni az *Ixodiphagus hookeri* parazita darázs jelenlétét nimfamintákban, ami egy új detekciós irányt jelöl ki.

2. Rezisztom és mobilom vizsgálatok

Felismerte és innovatív módon hasznosítja az adatbázisokba deponált ún. „szekunder” szekvenciaadatokban rejlő potenciált a változatos humán-állat-élelmiszer interfészek rezisztom- és mobilom-jellemzésére.

Kutatásai igazolták, hogy az emberi fogyasztásra szánt nyers tej, fermentált tejtermékek (joghurt, kefir) és gyakran használt probiotikus baktériumok változatos mennyiségben tartalmaznak antibiotikum rezisztencia géneket, melyek egy része mobilis elemekhez köthető, emiatt potenciálisan transzferábilis. Továbbá rámutatott arra, hogy e gének kópiaszáma az erjesztés során a gazdabaktériumok szaporodásával együtt változik.

A nemzetközi szakirodalomban elsőként írta le a lucernaszilázs rezisztomját és mobilomját az adatbázisban elérhető két BioProjekt 52 mintájának elemzésével. A minták közel felében azonosítottak széles gazdaspektrumú, - patogén baktériumokban is gyakori -, a szakirodalmi adatok alapján is magas mobilitási potenciállal bíró rezisztenciagéneket, mint az *aadA2*, *aph(3')-IIIa*, *ant(6)-Ia*, *qnrS1*, *sul1*.

Különböző nemzetségekbe tartozó baktériumtörzsek metagenomikai analízise során megállapította, hogy a szigorúan vektorokhoz kötött intra- és extracelluláris kórokozók többségében a rezisztenciagének gyakorisága elhanyagolható vagy azok teljesen hiányoznak (pl. *Anaplasma*, *Borrelia*). Ezzel szemben a gazdaszervezetekben levő fajoknál (*Coxiella*) szignifikáns összefüggést mutatott ki az állati (szarvasmarha) eredet és a rezisztencia-pozitivitás között. Ugyanakkor hangsúlyozandó, hogy bár e kórokozók közül több is terjed kullancsok révén, a kompetens ízeltlábú vektorok köre szélesebb. Emiatt a tudományos pontosság megköveteli a „kullancs” helyett az általánosabb „vektor” kifejezés használatát.

Kutyanyál metagenomikai analízise során a vizsgált 26 kutyanyál mintából 25-ben a rezisztencia gének széles spektrumát mutatta ki, köztük a TEM és OXA β -laktamáz gén családok amoxicillin-klavulánsav rezisztenciát meghatározó tagjait. A detektált rezisztencia gének túlnyomó része plazmidhoz köthető.

3. Antimikrobiális rezisztencia-potenciál koncepciója

Összesen 574 *Escherichia coli* színtenyészet fenotípusos és genotípusos adatainak összevetése igazolta, hogy a törzsek fenotípusos rezisztenciája a rezisztom diverzitása alapján elfogadható megbízhatósággal becsülhető. Ezen adatokra alapozva felvetette az „antimikrobiális rezisztencia-potenciál” (AMRP) fogalmának bevezetését, amely komplex mikrobiológiai minták metagenomikai alapú rezisztom-értelmezését teszi lehetővé. Véleményem szerint azonban a terminológia további finomításra szorul, ugyanis az adott minta rezisztencia potenciáljának meghatározásához elengedhetetlen rezisztom mobilitási potenciáljának integrálása is.

Az eredmények tudományos színvonalát és tudományos értékét nem csorbító szakmai kiegészítések:

- > A dolgozat bevezető részében célszerű lett volna egy olyan ábrát elhelyezni, amely szemlélteti azokat a mikrobiális ökológiai összefüggéseket, amelyek a vizsgált niche-eket az Egy Egészség keretrendszeren belül összekapcsolják.
- > A saját gyűjtésű mintákon végzett mézelő méh mikrobiom vizsgálatok esetében hiányoltam a módszertani alapadatok – vizsgált családok száma, családon belüli mintanagyság, illetve a mintavételezési protokoll - közlését. Ugyanez vonatkozik a kullancs mintákra is.
- > Releváns kiegészítés lenne a mézelő méh és kullancs metagenom antimikrobiális rezisztencia mintázataira vonatkozó hazai adatok bemutatása.
- > A nyerstej mikrobiom eredmények megvitatása során indokolt lenne a legfrissebb hazai szakirodalmi adatok (pl. Kerek et al., [doi: 10.3390/vetsci11060265]) beépítése.
- > Bár a teljes metagenomikai adatsor kimerítő elemzése messze túlmutatna a dolgozat keretein, - a szilázs rezisztomjához hasonlóan a többi fejezetben is- kiemelten fontosnak tartom azoknak a kritikus rezisztencia determinánsoknak a részletes tárgyalását, amelyek széles gazdaspektrummal, illetve niche-eken átívelő transzferpotenciállal rendelkeznek.
- > A vektor-közvetítette bakteriális metagenom vizsgálatok fejezet értékes eredményeit sajnálatos módon megbontja egy oda nem illő angol nyelvű bekezdés.
- > Kiemelten fontosnak tartom a helyes írásmód használatát az olyan gének esetében, mint a *bla_{TEM}* és az *bla_{OXA}*. Ezzel kapcsolatos kérdésem, hogy a metagenomikai vizsgálatok lehetővé teszik-e az allél-szintű rezisztenciameghatározást, ami a TEM és OXA géncsaládok funkcionális annotációja szempontjából kritikus jelentőségű?

Az új eredmények tételes értékelése

Az értekezés végén megfogalmazott 13 tézispontot az alábbiak szerint, tételesen értékelem az MTA doktori szabályzata szerint:

- **1a. tézispont (Mézelő méh bélbakterioma természetes variabilitásának jellemzése):** A bélmikrobiom szezonális és klimatikus tényezők által meghatározott változásának bemutatását új tudományos eredménynek tekintem.
- **1b. tézispont (*Vairimorpha ceranae* hazai metagenomikai-alapú azonosítása):** A kórokozó évszakos dinamikájának és filogenetikai összefüggéseinek első feltérképezését új tudományos eredménynek tekintem.
- **1c. tézispont (AmFV genomdiverzitás feltárása):** Az AmFV első hazai mintákból származó teljes genomjainak összeállítása és genomi diverzitásának jellemzését új tudományos eredményként elfogadom.
- **2a. tézispont (Kullancs-mikrobiom komparatív jellemzése):** A klasszikus kórokozó-detektáláson túl, a nimfa és imágó stádiumok bakterioma-eltéréseinek rendszerszintű feltárását új tudományos eredménynek tekintem.

- **2b. tézispont (*Ixodiphagus hookeri* első hazai detektálása):** Az *Ixodiphagus hookeri* parazita darázs első magyarországi metagenom-alapú azonosítását és a nyugat-magyarországi klaszter kimutatását új tudományos eredményként elfogadom.
- **3a. tézispont (Nyers tej rezisztom jellemzése):** A nyers tej komplex metagenomikai analízisét meghatározó módszertani mérföldkőnek tekintem, amely megágyaz a szakterület friss kutatásainak.
- **3bc. tézispontok (Rezisztom-dinamika meghatározása fermentált tejtermékekben):** A fermentált tejtermékek mikrobiom vizsgálata a rezisztenciagének azonosításán és mobilitásának predikcióján túlmenően rámutat a gének kópiaszámának dinamikus változására az erjesztés során. Ezért a kutatás eredményeit eredetinek és tudományosan megalapozottnak tartom.
- **3d. tézispont (Probiotikus baktériumfajok metagenom vizsgálata):** A hagyományos, törzs-alapú vizsgálatokkal szemben alkalmazott metagenomikai megközelítés lehetővé teszi a potenciálisan mobilis rezisztenciagének populációs szintű elemzésére. Ez a módszertan kiemelkedő jelentőségű a probiotikus törzsek biztonsági profiljának és esetleges kockázati tényezőinek felméréséhez.
- **4. tézispont (Lucernaszilázs rezisztom és mobilom első felmérése):** Nemzetközi elsőbbséggel közölt metagenomikai adatokat a lucernaszilázs rezisztomjáról és mobilomjáról, rámutatva az erjesztett tömegtakarmányok rezisztencia viszonyainak monitorozása mellett a rezisztencia kockázatok kezelésének fontosságára.
- **5. tézispont (Vektor-közvetítette kórokozók metagenom analízise):** A fentiekben tett megjegyzésemet szem előtt tartva az eredményeket rendkívül izgalmasnak és újszerűnek tartom. Az értekezés elsőként azonosítja a *Coxiella burnetii*-t mint magasan rezisztens rezervoárt a vektor-szarvasmarha transzmissziós láncban és rámutat a gazdaszervezet környezetének a patogén genetikai mintázatára gyakorolt szelekciós hatására.
- **6. tézispont (Kutyanyál rezisztom és mobilom feltérképezése):** Míg a humán orális mikrobiom rezisztencia génjeinek vizsgálata kiterjedten kutatott terület, a kutyák szájüregi rezisztomjának - különösen a patogénekhez köthető rezisztomok - feltárását kiemelkedő jelentőségű új tudományos eredményként értékelem.
- **7. tézispont (Antimikrobiális rezisztencia potenciál fogalmának bevezetése):** A felvetett koncepció, miszerint a komplex klinikai minták rezisztomja nem csupán statikus rezisztencia profil, hanem egy prediktív kockázati modell - ami a fenotípusos megnyilvánulás előtt képes „meglátni” a rejtett rezisztencia készletet - jelentős tudományos értékkel bír.

Kérdések a nyilvános vitára

1. A mézelőméh bélbakterióta összetételének dinamikus változásai alapján, véleménye szerint azonosíthatók-e a méztermelési időszakban olyan kritikus periódusok, amikor a méhek bakteriális és vírusos patogénekkel szembeni fogékonysága előrejelezhetően megnő?

2. A rendelkezésre álló módszertani és bioinformatikai feltételek mellett mennyire tartja megvalósíthatónak egy metagenom-alapú kullancs-mikrobiom monitoring rendszer bevezetését?
3. Elképzelése szerint az intracelluláris patogének esetében – mint pl. a *Coxiella burnetii* – az izolátumokban azonosított mobilis rezisztencia gének hogyan járulnak hozzá a horizontális géntranszferhez?

Összefoglaló bírálói nyilatkozat

Mindent egybevetve megállapítható, hogy Dr. Solymosi Norbert MTA doktori értekezése kimagasló színvonalú. A dolgozat alapját képező 13 magas presztizsű folyóiratokban megjelent közlemény - amelyeknek a Jelölt első vagy utolsó szerzője – egyértelműen igazolja a Jelölt hazai és nemzetközi elismertségét és vezető kutatói szerepét.

Az Állatorvostudományi Egyetem önálló Bioinformatikai Központjának létrehozása, az interdiszciplináris hazai és nemzetközi kutatási hálózat kiépítése, valamint a bioinformatika integrálása a graduális és PhD képzésbe szintén megkérdőjelezhetetlen bizonyítékai a Jelölt iskolateremtő munkásságának az állatorvosi genomika területén.

A fentiek alapján a doktori művet nyilvános vitára maradéktalanul alkalmasnak tartom, javaslom a nyilvános védés kitűzését, és a Jelölt számára az MTA doktora cím odaítélését

Budapest, 2026. június 26.

Szmolka Annamária, PhD
HUN-REN Állatorvostudományi Kutatóintézet