

Válasz Dr. Radák Zsolt bírálataira

Ezúton köszönöm Dr. Radák Zsoltnak, hogy elfogadta és elvégezte az értekezésem bírálatait, valamint véleményét, amellyel munkám nyilvános vitára bocsátását javasolta. Köszönöm a dolgozatommal kapcsolatos tárgyilagos, világosan megfogalmazott kritikai észrevételeit és kérdéseit, amelyekre a válaszaim az alábbiak.

Válaszok a kritikai észrevételekre

Open science – szabadon elérhető adatok

Bár a mások által generált adatok újraelemzése költséghatékony és innovatív, az exploratív (felderítő) jelleget erősíti. Mivel ezen adatokhoz gyakran hiányos metaadatok társulnak, a levonható biológiai és járványügyi ok-okozati következtetések (szemben a puszta korrelációkkal) bizonyos esetekben limitáltak.

Válasz: Teljesen egyetértek a Bíráló véleményével, a szabadon elérhető adatokhoz közzétett metaadatok jelentősen korlátozzák az eredményekre alapozott következtetések körét. Munkáinkban ezt igyekeztünk szem előtt tartani. Így az antimikrobiális rezisztenciagének (ARG) jelenlétével és mobilitásával kapcsolatban azok jelentőségének lehetőségére igyekeztünk rávilágítani, éppen a Bíráló által írt exploratív módon. Ezen tanulmányaink során az elsődleges célkitűzésünk az volt, hogy olyan állatokhoz köthető forrásokat azonosítsunk és vizsgáljunk, amelyekből ARG-hordozó baktériumok kerülhetnek közvetlenül vagy közvetve az emberi szervezetbe. Ennek során a felhasznált minták 99,8%-a (2860/2865) nem általunk szekvenált mintákra épült, amely mintákhoz tartozó metaadatok sokszor nagyon hiányosak voltak. Egyetlen kivételtől eltekintve – kullancsok által terjesztett baktériumok ARG-tartalmával kapcsolatos munkánkban, a *Coxiella*-minták ARG-tartalmának gazdafüggésének vizsgálata – nem végeztünk kvantitatív összefüggés-vizsgálatot. E munkák leíró eredményei alapján viszont számos hipotézist fogalmaztunk meg, amelyek tisztázása már jól kontrollált, saját mintagyűjtésre, szekvenálásra épülhetett volna, azonban forráshiány miatt nem tudtunk továbblépni.

Állati gazdaszervezetek és vektorok ökológiai metagenomikája

*A metagenomikai adatok kompozicionális pillanatképek. Bár a csapadék és a *V. ceranae* abundanciája között statisztikai összefüggés van, a módszertan nem ad választ arra, hogy az időjárás közvetlenül a patogén szaporodását segíti, vagy a méhek immunstátuszát / táplálékkereső viselkedését módosítja. A biológiai mechanizmusok bizonyításához in vivo kiegészítő vizsgálatokra lenne szükség.*

Válasz: Ebben is egyet kell értenem a Bírálóval. A metagenomikai vizsgálataink alkalmával sokszor a kiindulási kérdéseinkre adható válaszokon túl kapunk érdekes eredményeket. Időnként mindegyik ilyen szál végigvitelére nincsen lehetőségünk. Ennek oka részben anyagi, részben eszköz-, és személyi kérdés. A Bíráló által felvetett kérdés vizsgálata is ilyen. A bemutatott tanulmányainkban tulajdonképpen tisztán *in silico* bioinformatikai munkát végeztünk (a néhány mintavételtől eltekintve), ennél többre nem is vállalkozhattunk, így kísérletes vizsgálatokra sem, amely pedig elengedhetetlen az oksági kapcsolatok feltárásához.

Mobilis genetikai elemek (MGE) és a horizontális géntranszfer (HGT) kockázata

A jelölt konklúziója, miszerint az élelmiszerek és probiotikumok az emberi rezisztom fontos forrásai lehetnek, logikus és megalapozott. Azonban a dolgozat olvasásakor szem előtt kell tartani a kockázat valós mértékét: ezek az ARG-k (pl. a szilázsban vagy a kefirben) túlnyomórészt szaprofita, kommenzális fajokból származnak. A bioinformatika kimutatja az

iMGE jelenlétét, de nem képes megjósolni a HGT in vivo hatékonyságát és gyakoriságát a humán bélrendszerben. Az elméleti, in silico prediktált mobilitás és az in vivo transzferálás valószínűsége között jelentős szakadék tátonghat.

Válasz: Teljesen egyetértek a Bíráló értékelésével. Igyekeztünk e források ARG-tartalmát mértéktartóan interpretálni. A témában még nagyon sok kérdés tisztázásra vár, így a szaprofita-patogén ARG-átadási valószínűségek, fajról fajra, nemzetségről nemzetségre. De mivel nem kizárható ez a folyamat, a probiotikus készítmények ARG-tartalmának NGS-alapú vizsgálatára vonatkozó szabályozások jelentek meg a közelmúltban. Emellett az ARG-k nem feltétlenül jelenthetnek veszélyt az azt hordozó baktériumoknak otthont adó gazdaszervezet számára. Így pl. vannak olyan adatok (és vélekedések), hogy az ARG-t hordozó bélbaktériumok nagyobb fitness-szel rendelkeznek, ezáltal a bélműködés stabilitását segíthetik. Véleményem szerint itt fontosak lennének olyan kutatások, amelyek ezt ARG-típus szerint vizsgálnák. Ezek feltételezett eredményei alapján el tudnák képzelni olyan „tervezett” probiotikus baktériumokat, amelyek ugyan tartalmazznak ARG-eket, de csak olyanokat, amelyek a gazdaszervezet esetleges antibakteriális kezelésében használt fontosabb antibiotikumok elleni rezisztenciában nem játszanak szerepet.

Antimikrobiális rezisztencia-potenciál

Az AMRP óriási klinikai potenciált hordoz az empirikus terápia kiválasztásában, hiszen a tenyésztethetetlen baktériumok rezisztenciáját is figyelembe veszi. Ugyanakkor az E. coli színtenyészetek (tisztá kultúrák) adatainak extrapolációja polimikrobiális biofilmekre komoly fenntartásokat igényel. A szerző maga is korrektül megemlíti a "kooperatív rezisztencia" (pl. extracelluláris enzimek által biztosított keresztvédelem) és az expresszió hiányának problémáját. Egy mély fertőzésben a mikrobiális közösség dinamikája sokkal komplexebb annál, mint amit a puszta génkészlet (rezisztom) összege mutat. Emiatt az AMRP ma egy kiváló prediktív mankó, de az AST klinikai leváltására vagy felülírására még nem alkalmas.

Válasz: Újra egyet kell értenem a Bírálóval. A fenotípusos rezisztencia és annak genomiális kapcsolata még sok ponton tisztázásra szorul, és intenzíven vizsgált terület. Az *E. coli* a korábbi munkáinkban ARG-gazdag fajnak adódott, tulajdonképpen ezért gyűjtöttünk e fajhoz tartozó fenotípusos rezisztencia-, és genomikai adatokat, és vizsgáltuk azok megfeleltethetőségét. Ez a munka jelenleg azzal folytatódik, hogy több baktériumfajon vizsgáljuk az alkalmazott ARG-adatbázisok, illetve ARG-detektáló algoritmusok hatását a genomikára alapozott fenotípusos rezisztencia prediktív értékeire. Azonban ez is csak színtenyészetek fenotípusos adataira támaszkodik, így a valós klinikai minta komplexitását csak töredékesen ragadhatja meg. Az AST leváltására még valóban nem alkalmas az AMRP koncepciója, de kiegészítheti a klasszikus megközelítést.

Válaszok a feltett kérdésekre

Az Antimikrobiális Rezisztencia-Potenciál (AMRP) korlátai a polimikrobiális fertőzésekben

Klinikai szempontból hogyan lehetne az AMRP modellt úgy finomítani, hogy ezek a közösségi interakciók és in vivo génexpressziós különbségek ne vezessenek a hatékony antibiotikum-terápia téves (fals predikción alapuló) megválasztásához?

Válasz: Az ARG-detekcióra alapozott fenotípus predikciója akkor lehetne tökéletes, ha az adott komplex mikrobiológiai mintából az összes baktérium (sőt minden mikroorganizmus) genomja teljes egészében összeállítható, elemezhető lenne. Továbbá nem csak a genom szerkezete, de az egyes gének expressziója is. Erre alacsony fajgazdagságú, nagyon mélyen szekvenált metagenomikai minták kivételével jelenleg sajnos nincsen lehetőségünk. Így ehhez az ideális helyzethez képes mindenképpen töredékes ismeretekhez

juthatunk genomikai eszközökkel. A téves genom alapú fenotípusos AMR predikciójának két esetét vizsgáltuk. Lehetséges az, hogy genotípus alapján azt prediktáljuk, hogy a baktériumok rezisztensek, de valójában érzékenyek egy adott hatóanyaggal szemben (major error rate, ME). Ilyenkor kizárunk a kezelésből olyan hatóanyagot, ami hatásos lenne. A másik esetben genotípus alapján azt prediktáljuk, hogy a baktériumok érzékenyek, de valójában rezisztensek (very major error rate, VME). Így nem hatékony hatóanyagot választunk ki. Klinikai, terápiás hatékonysági szempontból ezt gondolhatjuk fontosabbnak. A VME csökkentése az ARG-pozitív azonosítások növelésével érhető el. Ennek eszközei az elérhető, legtöbb ARG-t tartalmazó adatbázis(ok) használata, a szekvenálási mélység növelése, illetve az ARG-detekció érzékenységeinek növelése. Ha kevebb ARG-t tartalmaz az alkalmazott adatbázis, akkor kevesebb ARG-t detektálhatunk, így nagyobb a valószínűsége annak, hogy nem találunk meg a mintában jelen lévő ARG-ket. Értelemszerűen az adatbázisban lévő ARG-k mennyiségének növelésével ennek a valószínűsége csökken. Nagyobb szekvenálási mélységgel növeljük annak a valószínűségét, hogy a mintában lévő összes ARG-ről kapjunk információt. Ez természetesen járhat azzal, hogy nagyon alacsony mennyiségben jelenlévő ARG-t is azonosítunk, és ezáltal kizárunk a mintában jelenlévő baktériumok többségére hatékony hatóanyagokat is. Az ARG-k detekciójában két megközelítést szoktunk alkalmazni. Az egyikben a short vagy long read-ekből kontigokat állítunk össze, amelyeken ORF-eket prediktálunk, azokat pedig ARG-kkel való szekvenciális azonosságuk alapján szűrjük. Ez a megközelítés lehetővé teszi az ARG-k környezetének vizsgálatán túl az ARG-t hordozó kontig pontosabb taxonklasszifikációját is. Ugyanakkor ezzel a módszerrel kisebb valószínűséggel detektáljuk az alacsonyabb abundanciájú ARG-ket. A másik ARG-detektáló megközelítésben az ARG-szekvenciákra illesztjük a read-jeinket és a referencia lefedettségéből és a szekvenciális azonosság alapján szűrjük a találatokat. Ezzel a módszerrel általában több ARG azonosítható, ugyanakkor azok szekvenciális környezetéről és taxoneredetéről nem igazán kaphatunk megbízható adatokat. A VME csökkentésével kizárhatunk olyan hatóanyagokat, amelyek elleni rezisztenciáért felelős ARG-t a vizsgált baktérióta kisebb abundanciájú, vagy csak szaprofita tagjai hordozzák. Ennek a hibának a csökkentése érdekében létezik olyan kezdeményezés, hogy szakértői értékelés, fenotípusos adatok alapján hozzanak létre adatbázist (<https://github.com/AMRverse/AMRrules>), amely átfogó módon tartalmazza a patogén baktériumok és ARG-k kapcsoltságát. A korábban említett ARG-detektálási eredményeknek e kapcsoltságok alapján való szűrése csökkentheti azon ARG-k számát, amelyek ismereteink alapján nem kapcsolhatók kórokozó baktériumokhoz. Ugyanakkor érdemes figyelembe venni, hogy a nagyobb mértékben kutatott baktériumfajokról több, a kevésbé vizsgáltakból kevesebb ilyen ARG-kapcsoltsági ismeretünk van (Centner et al., 2026). Így azok az ARG-k, amelyek az adatbázis alapján nem köthetők patogénekhez, kieshetnek a szűrés során, pedig lehetséges, hogy csak nincsen publikált ismeretünk a kapcsoltságukról. A bemutatott AMRP-konceptiót abba az irányba próbáljuk fejleszteni, hogy az azonosított ARG-k mintán belüli jelentőségéhez valószínűségi becsléseket tudjunk rendelni. Ennek első lépésben az adatbázisok, ARG-detekciós algoritmusok ARG-eredményekre való hatásának összehasonlító értékelését végezzük. Emellett az ARG-k mintán belüli előfordulási gyakoriságát, illetve taxonbesorolását vizsgáljuk. Reményeink szerint így kialakítható az ARG-k olyan szűrése, amely kevesebb téves pozitív ARG-azonosítást eredményez.

A fermentált élelmiszerekben lévő mobilis ARG-k valós és elméleti közegészségügyi kockázata

Bioinformatikai predikciókon túl, hogyan lehetne in vivo modellekkel ténylegesen számszerűsíteni annak a horizontális géntranszfernek (HGT) a gyakoriságát, amely során ezek az élelmiszeredetű, szaprofita ARG-k átadódnak a humán bélrendszerben lévő releváns kórokozóknak? Hol húzható meg a határ a -genomikai elméleti kockázat« és a »valós közegészségügyi fenyegetés« között?

Válasz: A kérdés kapcsán először azt szeretném hangsúlyozni, hogy dolgozatomban bemutatott eredményeink nem jeleznek közvetlen közegészségügyi fenyegetést. A tárgykörben született munkáinkban a források ARG-tartalmára, illetve az ARG-k potenciális mobilitására vonatkozóan közöltünk eredményeket. Természetesen jelezve az ARG-k lehetséges klinikai jelentőségét. Fermentált élelmiszereket évezredek óta fogyasztunk, azok sokak számára nyilvánvaló előnyös hatásai miatt. Ugyanakkor a mi vizsgálatainkhoz hasonló NGS-alapú munkák is hangsúlyozzák ezen élelmiszerek ARG-tartalom-vizsgálatának szükségességét, az AMR globális kihívásaitól nem függetlenül. A probiotikus élelmiszerek, takarmányok, kiegészítők ARG-szűrésére egyre nagyobb figyelem irányul, és már nemzeti és nemzetközi ajánlásokban is megjelenik. Így az ARG-k NGS-alapú szűrésére (EFSA, 2024), vagy a mi munkánkat is figyelembe vevő monitoringra vonatkozó felvetésekre is (EFSA FEEDAP, 2025; Ziegler et al., 2026).

Régóta szerettem volna a kérdésben felvetett vizsgálatokat végezni, azonban erre eddig nem volt lehetőségem. Ha tehetném nem emberi modellen végeznék ilyen vizsgálatot, hanem olyan fajon, amelynek a bélbakteriótája sokkal kisebb fajgazdagságú (pl. mézelő méhek). Emberi modell esetén számos megkötésünk lenne. Ha kerülni szeretnénk az invazív mintavételt, akkor teljes sterilítás mellett végzett mintagyűjtésből származó széklet jelenthetné a vizsgálat alapját. A bevont alanyokból a vizsgált probiotikus készítmény fogyasztása előtt több (legalább öt) mintavételből származó széklet jelentené az egyedi referenciát. A probiotikum fogyasztása során, mondjuk 10 héten át, hetente vennénk mintákat. Minden mintából nagy mélységű (min. 100M klaszter) Illumina szekvenálással generált readok alapján taxonklasszifikációt, ARG-detekciót és ARG-mobilitási predikciót végeznénk. A probiotikumnak nagyon kiegyenlítettnek kellene lennie. Olyan baktériumtörzsekből kellene összeállítani, amelyek tartalmaznak fajhoz/nemzetséghez köthető ARG-t, több fajban/nemzetségben előforduló ARG-t, úgy, hogy ezek között legyen mobilis elemhez kötött és kromoszómális is. A probiotikum minden gyártási sorozatából az említett mélységű szekvenálást külön el kellene végezni. Egy 20 fős pilot studyt elképzelve, 5 fős csoportokban a probiotikum különböző adagjait vizsgálhatnánk. A vizsgálat fő végpontja az lenne, hogy megjelennek-e a probiotikumban lévő ARG-k olyan fajokban, a székletben, amelyekben a referencia mintákban nem találtunk. A vizsgálat eredményei, tapasztalatai alapján nagyobb mintaelemszámmal folytathatnánk a kutatást. Fontos rámutatni, hogy ez az elrendezés nem érinti a kórokozónak való átadási lehetőséget. Ennek vizsgálata sokkal bizonytalanabb lábakon áll. Az elképzelhető lenne, hogy tudottan bakteriális eredetű enterális betegséggel érintett alanyokat vonunk be a vizsgálatba. Itt ugyanakkor nyilván csak olyan probiotikus élelmiszer alkalmazása jöhetne szóba, aminek fogyasztása az adott kórképben nem ellenjavalt. Ez azt is jelenti, hogy az előbb említett tervezett probiotikum összeállítása nem lehetséges, ami pedig alapvetően érinti az eredmények megbízhatóságát. Ha nem emberi modellben gondolkodnánk, akkor a vázolt vizsgálatot árnyalhatnánk azzal, hogy olyan antibiotikumot is adunk per os, amelyre vonatkozó rezisztenciáért felelős ARG-t tartalmaz a probiotikum.

Evolúciós gátak a kullancs-terjesztette kórokozók rezisztomjában

Milyen konkrét ökológiai, mikrobiológiai vagy genetikai gátak (barrier-ek) akadályozzák meg, hogy a Borrelia vagy Anaplasma fajok sikeresen vegyenek fel rezisztenciagéneket ebből a közös vérszívási és gazda-környezetből?

Válasz: A kérdés megválaszolásában szükséges megvizsgálni a tárgyalt baktériumokra vonatkozó specialitásokat arra vonatkozólag, hogy az ARG-k hogyan kerülhetnek át egy baktériumból egy másikba, illetve az átadás/átvétel szereplői hogyan találkozhatnak.

Genomrészecskék, így az ARG-k baktériumok közötti horizontális géntranszferét (HGT) különböző mechanizmusok (konjugáció, transzdukción, transzformáció) teszik lehetővé (Soucy et al., 2015). A HGT sikerességét, mértékét befolyásolják bizonyos korlátozó mechanizmusok (Thomas & Nielsen, 2005). Így a sejtfelület fehér-

jéi akadályozhatják a konjugációval való felvételt, ha a sejt már rendelkezik az adott plazmáddal. A baktériumsejt a bejutó DNS-t azonosíthatja idegenként, aminek következményeként a replikáció nem valósul meg, lebontja azt, így nem jelenik meg a genomjában. Utóbbi mechanizmus a HGT-ben résztvevő baktériumok filogenetikai távolságának növekedtével csökkenti annak sikerességét valószínűségét.

Ugyan a *Borrelia* nemzetségben a HGT mindegyik formájára található szakirodalmi adat (Brisson et al., 2012; Akther et al., 2024), ritkán fordul elő (Dykhuizen & Baranton, 2001). Míg az *Anaplasma* esetében általános az a vélemény, hogy a konjugáció (még sohasem azonosítottak plazmidokat) és a transzdukció nem lehetséges ebben a nemzetségben (Darby et al., 2007). A HGT-mechanizmusok közül fennmaradó transzformáció pedig a legkisebb hatékonyságú, így e fajok ARG-felvételének nagyon kicsi a valószínűsége (McOrist, 2000).

Ezen túl ahhoz, hogy ARG-t vehessen fel a baktérium, szükség van donorra is. Egy becslés szerint a Lyme-borreliózist okozó fajok (LB) között 50-szer ritkább a HGT, mint az LB-fajokon belül (Oppler et al., 2021). Ez két szempontot vet fel, egyrészt ebben a nemzetségben már a különböző fajok is olyan filogenetikai távolságot jelentenek, amely az átvitelt nehezíti. Másrészt lehet, hogy ritkák azok a helyzetek, amikor eltérő *Borrelia* fajok egy térben a HGT-hez elég közel vannak egymáshoz (Oppler et al., 2021). Ennek ellentmondanak Moutailler et al. (2016) eredményei, ahol gyakori kettős vagy hármas *Borrelia* fajelőfordulást mutattak be. Míg a *Borrelia*-k extracelluláris kórokozók, addig az *Anaplasma*-k obligát intracellulárisak. Vagyis a gazdasejben kellene találkozniuk ARG-t hordozó baktériummal, aminek az esélye kisebb, mint az extracelluláris térben. Az intracelluláris baktériumok számai, ezrei fertőzhetik a gazdasejtet, amelyek származhatnak különböző fajokból, nemzetségekből. Lényeges szempont az, hogy ezek a kórokozók milyen baktériumokkal együtt fordulnak elő. Ha olyanokkal, amelyek ARG-gazdagok, akkor van esély a HGT-re. A közelmúltban megjelent áttekintések szerint kullancsokban LB-fajok jellemzően *Anaplasma*, *Ehrlichia* és *Rickettsia* fajokkal fordulnak elő (Popov et al., 2026), koinfenciókban az *Anaplasma* fajok pedig szintén *Borrelia*, *Ehrlichia* és *Rickettsia* fajokkal együtt jelentek meg (Porcelli et al., 2024). A *Borrelia* kivételével mindegyik a Rickettsiales rendjébe tartozik, amelyek között számos esetben azt figyelték meg, hogy a közeli nem kórokozó fajokhoz képest a kórokozók kevesebb génnel és mobilis genetikai elemmel rendelkeznek (Darby et al., 2007). Ezt részben azzal magyarázzák, hogy a feleslegesen hordozott gének, így ARG-k felesleges „költséget” jelentenek a baktériumsejt számára. Azonban a *Rickettsia* nemzetség tagjainál vannak adatok HGT-re (Georgiades et al., 2011).

A nyílt tudományos (Open Science) adatokból fakadó analitikai torzítások kezelése

Amikor ilyen felderítő (exploratív) jelleggel használunk mások által generált, változó minőségű szekvenciaadatokat, milyen algoritmikus szűrőfeltételekkel vagy standardokkal lehetne megbízhatóan elkülöníteni a valós, biológiailag releváns – de alacsony kópiaszámú – ARG-eket a minta-előkészítés során bekövetkezett mesterséges szennyeződésektől?

Válasz: A Bíráló első kérdésére adott válaszütemben említett valószínűségi szűrés nyújthat egyfajta megoldást erre, függetlenül attól, hogy szennyezőből vagy valóban a mintából származik a kérdéses, alacsony abundanciájú ARG. Ugyannakor a szennyezésekből származó ARG-k, az azokat hordozó baktériumok nem feltétlenül fordulnak elő alacsony abundanciával, így azok szűrésére nem alkalmas a vázolt megközelítés. A metagenomikában nem ismerek olyan szoftveres megoldást, ami megbízhatóan használható lenne a kérdésben. Metagenom assembled genomok (MAG) esetén a genomok teljessége, kontamináltsága adhat segítséget, de nem ismert összetételű mintánál ez sem teszi lehetővé a szűrést. Nézetem szerint a vizsgálatokat végzők mikrobiológiai és bioinformatikai együttes ismeretei, tapasztalatai jelenthetnek kontrollt a szennyezőkből származó eredmények azonosításában. A genomika más területein (pl. single-cell sequenc-

ing) alkalmazott molekuláris bárkódolás nyújthatna ugyan elméleti lehetőséget a szennyezők szűrésére, de amennyiben a bárkódolás előtt szennyeződik a minta, akkor ez sem tenné lehetővé a szennyezésből származó ARG-k algoritmus-alapú szűrését. Egyetlen olyan területet ismerek, ahol gyakorlatban használnak ilyen szűrést a szennyezés és a minta kutatási szempontból értékes részének szétválasztásában. Ez az archaikus DNS (aDNS) bomlási mintázat alapján való elválasztása az ún. modern szennyező szekvenciáktól, amelyek azt a bomlási mintázatot nem hordozzák. Egy vizsgálatunkban próbáltunk ókori mintából, az archaikusként jellemezhető readokból ARG-ket azonosítani, sajnos ez nem sikerült (Solymosi et al., 2026). Másoknak azonban nem csak géneket, de a teljes *Mycobacterium leprae* genomot sikerült összeállítani aDNS-readokból (Neukamm et al., 2020).

Végezetül ismételten köszönöm Dr. Radák Zsoltnak tárgyilagos, világosan megfogalmazott kritikai észrevételeit és kérdéseit, valamint hogy megállapításaimat összességében hiteles és új eredményeknek ismerte el. Kérem, hogy opponensi véleményére és kérdéseire adott válaszaimat szíveskedjék elfogadni.

Budapest, 2026. augusztus 5.



Solymosi Norbert

Hivatkozások

- Akther, S., Mongodin, E. F., Morgan, R. D., Di, L., Yang, X., Golovchenko, M., Rudenko, N., Margos, G., Hepner, S., Fingerle, V., et al. (2024). Natural selection and recombination at host-interacting lipoprotein loci drive genome diversification of Lyme disease and related bacteria. *MBio*, 15(9), e0174924.
- Brisson, D., Drecktrah, D., Eggers, C. H., & Samuels, D. S. (2012). Genetics of *Borrelia burgdorferi*. *Annual Review of Genetics*, 46(1), 515.
- Centner, C. M., Di Gregorio, S., Argimón, S., Brankin, A., Dean, A., Marcano Zamora, D., & Bertagnolio, S. (2026). Antimicrobial resistance databases: opportunities and challenges for public health. *npj Antimicrobials and Resistance*, 4(1), 1.
- Darby, A. C., Cho, N.-H., Fuxelius, H.-H., Westberg, J., & Andersson, S. G. (2007). Intracellular pathogens go extreme: genome evolution in the Rickettsiales. *TRENDS in Genetics*, 23(10), 511.
- Dykhuizen, D. E. & Baranton, G. (2001). The implications of a low rate of horizontal transfer in *Borrelia*. *Trends in Microbiology*, 9(7), 344.
- EFSA (2024). EFSA statement on the requirements for whole genome sequence analysis of microorganisms intentionally used in the food chain. *EFSA Journal*, 22(8), e8912.
- EFSA FEEDAP (2025). Safety and efficacy of a feed additive consisting of viable cells of *Lactobacillus acidophilus* CNCM I-3231, *Ligilactobacillus salivarius* CNCM I-3233, *Lactiplantibacillus plantarum* CNCM I-3232, *Lactocaseibacillus rhamnosus* CNCM I-4427, and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* CNCM I-3993 (FlorE-quilibre® Chien) for dogs (Wamine SAS). *EFSA Journal*, 23(12), e9794.
- Georgiades, K., Merhej, V., El Karkouri, K., Raoult, D., & Pontarotti, P. (2011). Gene gain and loss events in *Rickettsia* and *Orientia* species. *Biology Direct*, 6, 6.
- McOrist, S. (2000). Obligate intracellular bacteria and antibiotic resistance. *Trends in Microbiology*, 8(11), 483.
- Moutailler, S., Valiente Moro, C., Vaumourin, E., Michelet, L., Tran, F. H., Devillers, E., Cosson, J.-F., Gasqui, P., Van, V. T., Mavingui, P., Vourc'h, G., & Vayssier-Taussat, M. (2016). Co-infection of ticks: The rule rather than the exception. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(3), e0004539.

- Neukamm, J., Pfrengle, S., Molak, M., Seitz, A., Francken, M., Eppenberger, P., Avanzi, C., Reiter, E., Urban, C., Welte, B., et al. (2020). 2000-year-old pathogen genomes reconstructed from metagenomic analysis of Egyptian mummified individuals. *BMC Biology*, 18(1), 108.
- Oppler, Z., O'Keeffe, K., McCoy, K., & Brisson, D. (2021). Evolutionary genetics of *Borrelia*. *Current Issues in Molecular Biology*, 42, 97.
- Popov, G., Bashchobanov, D., & Andonova, R. (2026). Tick-borne co-infection in Lyme disease: Clinical impact, diagnostic challenges, and therapeutic perspectives. *Microorganisms*, 14(2), 325.
- Porcelli, S., Deshuillers, P. L., Moutailler, S., & Lagrée, A.-C. (2024). Meta-analysis of tick-borne and other pathogens: Co-infection or co-detection? that is the question. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 6, 100219.
- Solymosi, N., Pap, B., Nagy, S. Á., Tóth, A. G., Kevély, F. J., Maróti, G., Csabai, I., Kóthay, K., & Magyar, D. (2026). Metagenomic peek into a corn mummy. *Scientific Reports*. DOI: 10.1038/s41598-026-59149-8. Epub ahead of print.
- Soucy, S. M., Huang, J., & Gogarten, J. P. (2015). Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature Reviews Genetics*, 16(8), 472.
- Thomas, C. M. & Nielsen, K. M. (2005). Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 3(9), 711.
- Ziegler, D., Stark, J., Meier, S., & Brodmann, P. (2026). Microbiological safety of probiotic food supplements. *Food Risk Assess Europe*, 4(1), 0088E.