

HIVATALOS ÉRTÉKELŐI SZAKVÉLEMÉNY

A vizsgált mű adatai:

- **Szerző:** Solymosi Norbert
- **Cím:** Mikrobiális genomikai vizsgálatok: a metagenomtól az antimikrobiális rezisztencia-potenciálig
- **Típus:** MTA doktori értekezés
- **Év:** 2025

1. Formai követelmények, terjedelem és a disszertáció szerkezete A benyújtott doktori értekezés terjedelme 161 oldal a csatolt tudományos közleményekkel együtt, azok nélkül és az irodalmakkal 66 oldal, mely megfelel a tudományos fokozatszerzés formai és tartalmi elvárásainak. A dolgozat vizuális dokumentációja megfelelő és lényegretörő: az Eredmények fejezetben összesen 12 ábra (5.1. ábrától 5.12. ábráig) és 1 táblázat (5.1. táblázat) segíti a komplex bioinformatikai és metagenomikai adatok értelmezését.

A disszertáció szerkezete logikusan felépített, a klasszikus akadémiai tagolást követi 10 fő fejezetre bontva:

1. Köszönetnyilvánítás
2. Bevezetés
3. Célkritikázások
4. Módszerek
5. Eredmények (8 tematikus alfejezetre osztva, a méhek bélmetagenomjától az antimikrobiális rezisztencia-potenciálig)
6. Kitekintés
7. Új tudományos eredmények (tézispontok)
8. A dolgozat alapjául szolgáló közlemények (13 saját, meghatározó szerzőségű cikk)
9. A dolgozatban nem szereplő további közlemények
10. Hivatkozások

2. Átfogó értékelés és a kutatás koncepciója A jelölt munkája a globális "Egy egészség" (One Health) koncepció keretein belül vizsgálja a mikrobiális ökológia, az epidemiológia és a klinikai diagnosztika aktuális kérdéseit. A dolgozat alapvetése, hogy a klasszikus, Koch-féle posztulátumokon és célzott tenyésztésen alapuló (modellvezérelt) mikrobiológiai eljárások korlátozottak, hiszen a baktériumok jelentős része nem tenyésztethető. A jelölt ezt a korlátot

egy adatvezérelt, újgenerációs szekvenáláson (NGS) és shotgun metagenomikán alapuló megközelítéssel haladja meg.

Dicséretes a nyílt tudományos (open science) megközelítés: a kutatások egy jelentős része nyilvánosan elérhető adatbázisok (pl. NCBI SRA) másodlagos, célzott újrahasznosításán alapul. *Kritikai észrevétel:* 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.

A szerző rendkívül modern bioinformatikai eszközparkot alkalmazott (pl. Kraken2, MEGAHIT, RGI/CARD, PlasFlow, VirSorter2). A módszertan transzparenciája kiváló, a szerző objektivitását dicséri, hogy az eredmények értelmezésekor az esetleges laboratóriumi kontamináció lehetőségét is nyíltan kezeli (például a probiotikumokban talált *TEM-116* gén esetében).

AZ EREDMÉNYEK RÉSZLETES ÉRTÉKELÉSE

3. Állati gazdaszervezetek és vektorok ökológiai metagenomikája Az értekezés első nagy tematikus blokkja az állati mikrobiomok feltérképezésére fókuszál. A *mézelő méhek* (*Apis mellifera*) esetében a szerző országos, klimatikusan reprezentatív (hőmérséklet/GDD és csapadék alapján rétegzett) mintavételt alkalmazott. Meggyőzően bizonyította, hogy a magbakteriom jelentős szezonális (március vs. május) és klimatikus eltéréseket mutat. Szintén úttörő jellegű a méhek fonalas vírusának (AmFV) teljes genom-összeállítása hazai mintákból, valamint a *Vairimorpha ceranae* kórokozó széleskörű hazai elterjedésének bizonyítása, amely májusban, csapadékosabb területeken mutatott szignifikánsan magasabb abundanciát. *Kritikai megjegyzés:* 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.

A *kullancsok* (*Ixodes ricinus*) vizsgálata során a jelölt a nimfák és a kifejlett nőtények bakteriomja közötti szignifikáns eltérésekre mutatott rá. Kiemelkedő, hogy a szimbionta *Arsenophonus* és *Wolbachia* nemzetségek nimfákban tapasztalt magasabb abundanciájából deduktív logikával kiindulva, Magyarországon elsőként azonosította a kullancsokat pusztító *Ixodiphagus hookeri* parazitoid darázs genomját.

Értékelés: Ez a felfedezés az adatvezérelt hipotézis-generálás iskolapéldája, amely önmagában is igazolja a szerző bioinformatikai érettségét és biológiai rálátását.

4. A rezisztom térképezése a táplálékláncban Az értekezés talán leginkább gondolatébresztő része az antimikrobiális rezisztenciagének (ARG) élelmiszerláncban betöltött szerepének elemzése. A nyerstej metagenomikai vizsgálata megmutatta, hogy bár a Gram-pozitív dominanciájú (A-minta) és a Gram-negatív dominanciájú (B-minta) tejek eltérő ARG-profilut mutatnak, az emberi fogyasztásra szánt nyerstej hordozhat patogénekhez (pl. *S. aureus*) köthető rezisztenciagéneket. A szerző úttörő módon bizonyította a probiotikus tejtermékek (kefir, joghurt) és az erjesztett tömegtakarmányok (lucernaszilázs) esetében, hogy a fermentáció során az ARG-k abszolút mennyisége a hordozó baktériumok (pl. *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus kefirifaciens*) felszaporodásával párhuzamosan növekszik. A szilázs rezisztomjának publikálása a nemzetközi szakirodalomban is novumnak számít.

KRITIKAI ELEMZÉS: A REZISZTOM ÉS A KLINIKUM

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

A disszertáció nagy hangsúlyt fektet a mobilis ARG-k azonosítására a probiotikumokban és az élelmiszerekben. A vizsgált 27 probiotikus izolátumból ugyan sok nem tartalmazott ARG-t, de a pozitív mintákban (pl. *E. coli*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactococcus lactis*) a gének (pl. *ImrD*, *tet(W)*) gyakran integrált mobilis genetikai elemekhez (iMGE), plazmidokhoz vagy profágokhoz kapcsolódtak. *Kritikai megjegyzés:* 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.

6. Evolúciós nyomás: Kullancsok vs. Társállatok A One Health szemlélet a vektorok és társállatok összehasonlításában is érvényesül. A szigorúan vektorokhoz kötött kórokozók (*Borrelia*, *Anaplasma*) szinte egyáltalán nem tartalmaznak ARG-eket (0-4,7% pozitivitás). Ez az antibiotikum-szelekciós nyomás ökológiai hiányával magyarázható. Ezzel szemben a haszonállatokból származó *Coxiella burnetii* gyakrabban hordoz ARG-t, ami az agrárium antibiotikum-használatára reflektál. Ezzel éles kontrasztot mutat a kutyaanyag-metagenom: a

kutyaharapások során fertőzést okozó baktériumok (*Pasteurella*, *Bacteroides*) rendkívül gazdag és sokszor mobilis (pl. TEM és OXA) ARG-készlettel bírnak. *Értékelés:* Ez az eredmény közvetlen humán-traumatológiai és klinikai értékkel bír, hiszen felhívja a figyelmet az amoxicillin-klavulánsav terápiák potenciális kudarcára komplex harapásos sebek esetén.

ÖSSZEGZÉS ÉS VÉGSŐ JAVASLAT

7. Az Antimikrobiális Rezisztencia-Potenciál (AMRP) bevezetése és kritikája Az értekezés talán leginnovatívabb, egyben leginkább vitatható pontja az AMRP fogalmának bevezetése komplex mikrobiális mintákra. A szerző 574 *E. coli* színtenyészet adatain mutatja be, hogy a genotípus (ARG) alapján a fenotípusos érzékenység (AST) magas megbízhatósággal prediktálható (az antibiotikumok 88%-ánál a szenzitív törzsek legalább 90%-os valószínűséggel genotípusosan is szenzitívek voltak; míg a negatív prediktív érték az antibiotikumok jelentős részénél szintén >90% volt). Ezt az összefüggést javasolja a szerző kiterjeszteni a teljes metagenomra, felállítva a közösségi AMRP-t (mint ahogy ezt egy kutya külső hallójárat-gyulladásán modellezte). *Kritikai megjegyzés:* Az AMRP óriási klinikai potenciált hordoz az empirikus terápia kiválasztásában, hiszen a tenyészthetetlen 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 pusztá génkészlet (rezisztom) összege mutat. Emiatt az AMRP ma egy kiváló prediktív mankó, de az AST klinikai leváltására vagy felülírására még nem alkalmas.

8. Tudományos teljesítmény és végső konklúzió Solymosi Norbert doktori értekezése egy lenyűgöző adatmennyiséget mozgató, rendkívül magas technológiai és módszertani színvonalon megírt munka. A bemutatott új tudományos eredmények (7 tézispontban összefoglalva) hiánypótlóak mind a mikrobiális ökológia, mind a One Health alapú epidemiológia területén. A jelölt publikációs teljesítménye önmagáért beszél: az értekezés alapjául 13 darab, magas presztízsű (Q1/D1), angol nyelvű, impakt faktoros folyóiratban (pl. *Scientific Reports*, *Eurosurveillance*, *Antibiotics*, *PLOS One*) megjelent közlemény szolgál, melyek mindegyikében a szerző meghatározó (első vagy utolsó, levelező) pozíciót tölt be. Továbbá a "nem szereplő" közleményeinek hosszas listája (köztük a *Nature Communications*, *PNAS*, *Cell* folyóiratokban való társszerzőségek) széleskörű, interdiszciplináris beágyazottságát és elismertségét bizonyítja.

Végső javaslat: A disszertáció egyértelműen bizonyítja a jelölt tudományos érettségét, szintetizáló és kritikus gondolkodásmódját, valamint a bioinformatikai módszertan mesteri szintű alkalmazását. A felmerült kritikai észrevételek a kutatási terület (shotgun metagenomika) in vivo biológiai határaiból fakadnak, és nem csorbítják a jelölt munkájának értékét. **Az értekezés nyilvános vitára bocsátását és a doktori (MTA doktori) cím odaítélését javaslom.**

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

A disszertáció 5.8-as fejezetében Ön meggyőzően bizonyítja, hogy az *Escherichia coli* színtenyészetek esetében az antimikrobiális rezisztenciagének (ARG) jelenléte alapján nagy pontossággal megjósolható a fenotípusos rezisztencia. Ebből kiindulva javasolja az AMRP kiterjesztését komplex, több baktériumfajt tartalmazó klinikai mintákra (például kutyaharapásos sebekre). Ugyanakkor a komplex mikrobiomokban az ARG-k pusztán jelenléte nem garantálja a génkifejeződést (expressziót), ráadásul jelen van az úgynevezett -kooperatív rezisztencia- is, ahol egy rezisztens faj extracelluláris enzimeit megvédhetik az érzékeny törzseket.

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?

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

Ön úttörő módon tárta fel, hogy a fermentáció (például a kefir, joghurt és a lucernaszilázs esetében) felerősíti az ARG-ket hordozó baktériumok szaporodását, és

a detektált gének jelentős része mobilis genetikai elemekhez (plazmidokhoz, profágokhoz, iMGE-khez) kapcsolódik. Ugyanakkor ezek az ARG-k túlnyomórészt környezeti, szaprofita vagy kommenzális baktériumokból származnak.

Bioinformatikai predikciókon túl, hogyan lehetne in vivo modellekkel ténylegesen számszerűsíteni annak a horizontális géntranszfernek (HGT) a gyakoriságát, amely során ezek az élelmiszereredetű, 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?

3. Evolúciós gátak a kullancs-terjesztette kórokozók rezisztomjában

A dolgozat egy rendkívül érdekes evolúciós kontrasztot mutat be: míg a szigorúan vektorhoz kötött patogének (mint a *Borrelia* vagy az *Anaplasma*) genomja szinte teljesen mentes az ARG-ktől, a háziállatokból származó *Coxiella burnetii* jelentős rezisztommal bír. Tekintve, hogy a kullancsok haszonállatokból (amelyek kiterjedt ARG-források és *Coxiella*-hordozók is lehetnek) szívnak vért, így fizikai közelségbe kerülnek a rezisztens mikrobiótával.

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?

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

A kutatás egyik nagy érdeme a hatalmas mennyiségű másodlagos, nyilvános adatbázisból (pl. NCBI SRA) származó metagenomikai adat újrahasznosítása. Ugyanakkor Ön is nyíltan felveti – például a probiotikumokban talált *TEM-116* gén esetében –, hogy a pozitív találat egy korábbi laboratóriumi kontamináció eredménye is lehet, mivel az adatokhoz tartozó metaadatok sokszor hiányosak.

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?



Dr. Radák Zsolt
MTA Doktora