

Metagenomics – a new approach to study our microbial neighbours

E. Krikó¹
R. Farkas²
A. Adorján³
L. Makrai⁴
N. Solymosi^{1*}

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Bioinformatikai Központ

*E-mail: solymosi.norbert@univet.hu

2. Állatorvostudományi Egyetem,
Parazitológiai és Állattani Tanszék

3. Állatorvostudományi Egyetem,
Állathigiéniai, Állomány-egészségtani
és Állatorvosi Etológiai Tanszék

4. Állatorvostudományi Egyetem, Jár-
ványtani és Mikrobiológiai Tanszék,

Metagenomika – a velünk élő mikroorganizmusok megismerésének új megközelítése

Krikó Eszter¹, Farkas Róbert², Adorján András³, Makrai László⁴, Solymosi Norbert^{1*}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen tanulmányukban egy állatorvosi példán keresztül mutatják be a metagenomikai vizsgálatok fontosabb lépéseit. A bioinformatika területén olyan új eljárások kerülnek alkalmazásra, amelyek korábban kivitelezhetetlen vizsgálati lehetőségeket nyújtanak orvosbiológiai kérdések megválaszolásában. Így a magasabb rendű szervezetekben élő mikroorganizmusok fajösszetételére vonatkozó kutatásokban a metagenomika segítheti az ismeretek gyarapítását. A módszer főbb elemei mellett az olvasó betekintést kap a sertésdizentéria klinikai tüneteit mutató állatok vastagbél-tartalmában jelen lévő baktériumok, vírusok taxon-részarányaiba is.

SUMMARY

Background: In our age, the information society, the computer based technologies, including the data analytical procedures are parts of each site of the life. Bioinformatics provides approaches for the knowledge gathering and update which were not imaginable two decades ago. Metagenomics is the area of bioinformatics which helps improve our knowledge about the composition of microbial species in the production or companion animals, human being or environment.

Objectives: The present work describes the main steps of a metagenomics analysis. As an example, the metagenomics investigation of swine dysentery as an important animal disease is shown.

Materials and methods: From three clinically diseased fattening pigs intestinal contents were sampled from three different sections of the gut (i.e. caecum, colon and rectum). All DNA was extracted from the samples, thereafter sequenced by next generation sequencing technology. The produced 1,782,466 reads were pooled and analysed. The reads were aligned to archaea, bacteria and virus genome databases by the Kraken bioinformatics tool. The results of the alignments were visualized by the tool Krona.

Results and Discussion: The presented case study helps the reader understand how metagenomics studies work and provide new professional knowledge on the microbiome of selected organs in different creatures. The proportions of the different taxa allow to have an insight to the microbial communities of the gut in the diseased animals. Beside this, a short review is presented to demonstrate the application possibilities of metagenomics in the field of animal health. Bioinformatics is an emerging area and it is very important to have knowledge –clinicians and researchers as well – about the methods, their possible results and the limitations. This work provides a simple introduction to metagenomics in the language of veterinarians.

MIKROBIOLÓGIA

Általánosan ismert, hogy az összetett szervezetekben, így az emberben és a háziállatokban is nagyszámú mikroorganizmus él. Ezek egy része hasznára van a gazdaszervezetnek, mások a kárára (3). A szervezetben élő mikroorganizmusok összességét *mikrobiótának* (*microbiota*) nevezzük. Az utóbbi évtizedben a mikrobióták összetételének, változásának, ill. a gazdaszervezetre gyakorolt hatásának megismerésében alapvetően új megközelítés, a *metagenomika* (*metagenomics*) terjed egyre nagyobb körben. Míg a hagyományos mikrobiológiai, immunológiai vizsgálati módszerekkel adott mikroorganizmusok jelenlétére célszerűen lehet vizsgálatokat végezni, addig a metagenomika lehetőséget nyújt az adott mintában lévő összes ismert organizmus jelenlétének egyidejű kimutatására. A megközelítés lényege, hogy nem a mikrobiótát alkotó organizmusokat, hanem azok DNS-ét, RNS-ét használja fel. Ezáltal tulajdonképpen nem közvetlenül a mikrobiótát, hanem azok genomjainak összességét, az ún. *mikrobiomot* (*microbiome*) vizsgálja. A mikrobiomon belül megkülönböztetnek bakteriomot, viromot, mycobiomot stb. A minta minden összetevőjének genomját összefoglalóan *metagenomnak* (*metagenome*) nevezzük, ami a mikrobiomon kívül tartalmazhatja pl. a minta forrásául szolgáló gazdaszervezet genomját is.

A szervezetben élő mikroorganizmusok összességét mikrobiótának, ezek genomjának összességét microbiomnak nevezzük

A metagenomika lehetőséget nyújt az adott mintában lévő összes ismert organizmus jelenlétének egyidejű kimutatására

A következőkben egy állatorvosi szempontból érdekes eseten keresztül mutatjuk be egy metagenom-vizsgálat főbb lépéseit, ill. eredményeit. Ezt követően egy rövid irodalmi áttekintésben összefoglalunk néhány, az állatok egyes szerveinek, szervrendszerének mikrobiomjára vonatkozó eredményt.

ESETTANULMÁNY

*A sertésdizentéria előidézésében a *Brachyspira hyodysenteriae* baktériumnak tulajdonítják a főszerepet*

A sertésdizentéria nagy gazdasági károkat okozó betegség, amelynek kialakulásában számos fertőző és nem fertőző ok játszik szerepet. A betegség előidézésében a *Brachyspira hyodysenteriae* baktériumnak tulajdonítják a főszerepet. Azonban saját tapasztalatokból is tudjuk, hogy míg *Brachyspira hyodysenteriae* színtenyézzettel adott esetben nem lehet előidézni a betegséget fogékony állatokban, addig ugyanolyan hajlamosító tényezőknek kitett sertésekben a dizentéria klinikai tüneteit mutató egyedek bélsarával *per os* megfertőzve a kórkép kialakítható (1). Ezért feltételezhető, hogy a betegség kialakulásához a domináns kórokozó mellett valamilyen mikroorganizmus-együttes jelenléte szükséges.

Az alább bemutatott vizsgálat célja az volt, hogy dizentériás sertések vastagbél-tartalmának mikrobiótájára vonatkozóan ismereteket szerezzünk. A fentiekben leírtak szerint a klasszikus mikrobiológiai, immunológiai módszerekkel a mikrobióta közvetlen, teljes leírása nem kivitelezhető, így a mikrobiom vizsgálatával közelítjük meg a kérdést.

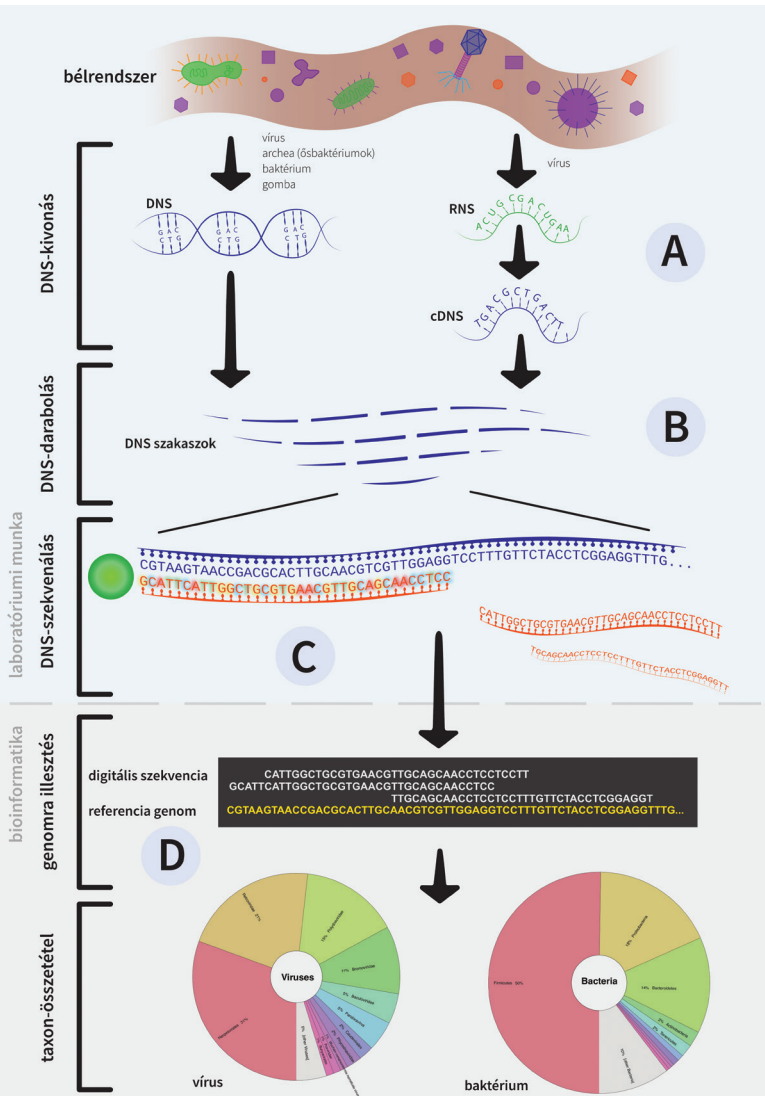
ANYAG ÉS MÓDSZER

Egy tartási helyről származó, a sertésdizentéria klinikai tüneteit mutató három hízósertésből kórboncolás során a vastagbél három szakaszából (colon, caecum, rectum) külön-külön béltartalom-mintát vettünk.

A béltartalom-minták mindegyikéből külön-külön kivontuk a bennük lévő DNS-t (1/A. ábra). Ezek a DNS-minták tartalmazzák a sertés saját genomjának részeit (pl. bélhámsejtekből), a takarmánynövényekből származó DNS-t, valamint a bélben lévő mikroorganizmusok (vírusok, baktériumok, egysejtű eukarióták) DNS-ét. A mintában lévő DNS-szálak változó hosszúságúak, de nagy részük több tízezer, több millió bázis mérettartományba esik.

Ezeket a hosszú szálakat a feldarabolás folyamata során restrikciós enzimekkel kisebb darabokra (ezres nagyságrendű bázisszám) törtük (1/B. ábra).

Három dizentériás sertés vastagbél-mintáit vizsgálták metagenomikai módszerekkel



1. ÁBRA. A metagenom-elemzés folyamatának vázlata

FIGURE 1. The workflow of the metagenome analysis

TÁBLÁZAT. A mintánként leolvasott szekvenciák leíró adatai

TABLE. Descriptives of the reads by samples

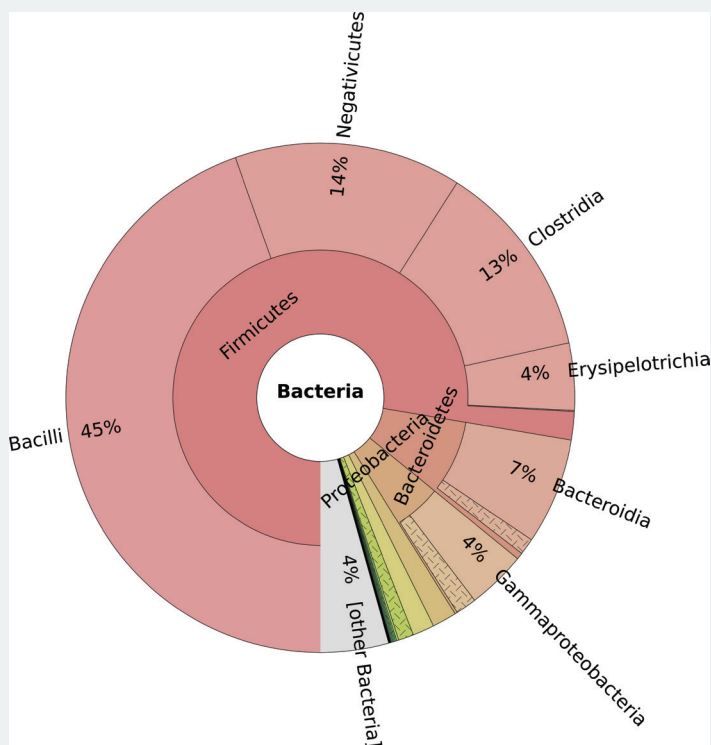
Egyed	Bélszakasz	Leolvasott szekvenciák		Teljes szekvenciamennyiség
		száma	átlagos hossza	
1.	caecum	201 319	182	36 640 058
	colon	159 894	170	27 181 980
	rectum	183 678	176	32 327 328
2.	caecum	210 288	185	38 903 280
	colon	198 226	179	35 482 454
	rectum	194 149	174	33 781 926
3.	caecum	220 724	183	40 392 492
	colon	203 885	180	36 699 300
	rectum	210 303	180	37 854 540

A darabolás a kiindulási DNS véletlenszerű pontjain történik, ezért kis valószínűséggel fordulhat elő az, hogy ugyanazon DNS-szekvencia több példányánál is azonos pontokon történjen a tördelés.

A így létrejött, rövidebb DNS-szakaszok nukleotid-sorrendjét nagy lefedettséggel meghatároztuk új-generációs szekvenáló platformon (1/C. ábra). A szekvenálás során a DNS-szekvencia meghatározása bázisról bázisra, az alkalmazott technológiától függően 50-től több száz bázis hosszúságban történik, de fontos megjegyezni, hogy nem a DNS-darabok teljes hosszában. A szekvenálási meghatározás során a bázisok beazonosítása és digitalizációja különböző módokon történhet, az egyik ilyen pl. az 1/C. ábrán jelzett bázisspecifikus színreakció.

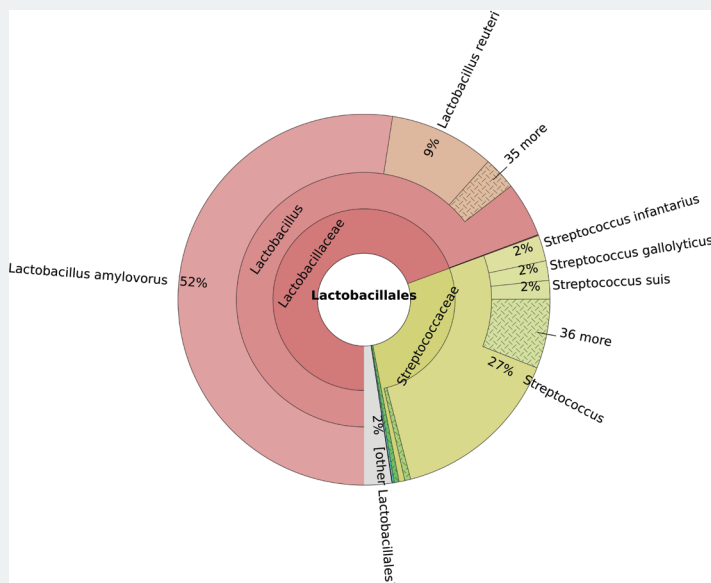
Az így meghatározott DNS-darabok digitális megfelelője a leolvasott szekvencia (read). A szekvenálás eredményeként több százezer, több millió digitalizált szekvenciát kapunk. A feldarabolás során említett véletlen pontokon való hasítás eredményeként ugyanazon DNS-szakaszcsoportból is eltérő kezdőpontú, így legalábbis részben eltérő digitális szekvencia generálódik. Ennek – az ún. shotgun-szekvenálási (2) megközelítésnek – köszönhetően, ha megfelelően nagy számú digitális szekvenciát olvasunk le egy kiindulási DNS-szakaszcsoportból, akkor ezekkel a rövidebb szakaszokkal annak teljes szekvenciáját le lehet fedni.

A metagenomikai vizsgálatokban az itt bemutatott shotgun-szekvenálás mellett gyakran alkalmaznak célzott (targeted) régiókra alapozott mintafeldolgozást is. Ennek során nem a minta teljes nukleinsav-tartalmát szekvenálják, hanem csak valamely célzottan kiszűrt részét. Ilyen pl. az ún. 16S



2. ÁBRA. A három sertésbél-tartalom-beli bakteriom összetevőinek törzs- és osztályszintű részaránya

FIGURE 2. Phylum and class level proportions of the bacteriome for intestinal contents of the three pigs



3. ÁBRA. A három sertésbél-tartalom-beli bakteriomban a Lactobacillales rend tagjainak nemzetség- és fajszintű részaránya

FIGURE 3. Genus and species level proportions of the Lactobacillales order for intestinal contents of the three pigs

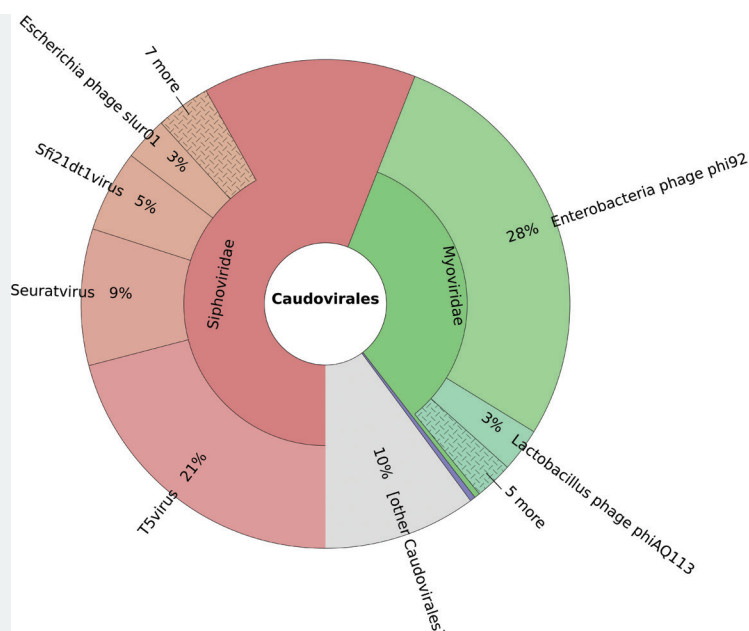
rRNS-gén szekvenálásán alapuló bakteriom vizsgálatát szolgáló megközelítés.

A metagenomikai vizsgálat folyamatának eddig bemutatott laboratóriumi (*wet lab*) szakaszát a bioinformatikai adatfeldolgozás követi (*bioinformatics*). Ennek alapját képezik a mintáinkból generált digitális szekvenciák, amelyeknek egyedenkénti és bélszakaszonkénti darabszámát mutatja be a *Táblázat*.

A továbbiakban a három sertés három bélszakaszából származó összes (1 782 466 db) digitális szekvenciát együtt kezeltük.

A vizsgálat tárgyát jelentő minta általában – ahogy esetünkben is – nem pusztán a mikrobióta genomját tartalmazza, hanem „környezeti” genomokat is, pl. bétartalom esetén tartalmazza a takarmány összetevőinek genetikai anyagát, és a gazda saját genomrészleteit is. Ez utóbbiak a vizsgálat szempontjából szennyeződésnek tekintendők, és a további elemzésekből célszerű kihagyni. A folyamatnak ezen a pontján azonban még nem tudjuk, hogy mely digitális szekvenciák lehetnek „szennyezők”, és melyek a mikrobiotához tartozók. Ennek megállapítására az összes digitális szekvenciát illesztettük a „szennyező” organizmusok – esetünkben a sertés és pl. a kukorica – referencia-genomjára. A *referencia-genom* az adott organizmus genetikai állományának jelenleg ismert bázissorrendje. Az ismert genomok referencia-szekvenciái különböző adatbázisokból szerezhetők be, a „szennyező” genomok szekvenciáit az amerikai National Center for Biotechnology Information (NCBI) RefSeq-genom gyűjteményéből (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/>) töltöttük le. Az *illesztés* során azt vizsgáltuk, hogy valamely digitális szekvencia ráilleszthető-e valahol a referencia-genom szekvenciájára, amely lépéshez a BWA szoftvert (9) használtuk.

A metagenomikai vizsgálatunk következő lépéseiben már csak a „szennyező” genomokra nem illeszkedő digitális szekvenciákat használtuk. Ezeket a *Kraken* nevű szoftverrel (21) illesztettük az összes archea- (ősbaktérium), baktérium-, és vírusgenomra, amelyek 2017. október 18-án elérhetőek voltak az NCBI RefSeq-genomgyűjteményében. Ennek az illesztésnek az eredménye alapján összeszámoltuk, hogy az egyes genomszekvenciákra hány darab digitális szekvencia illett rá. Az így létrejött táblázatból kihagytuk azokat a fajokat, amelyeknek genomjára nem illett rá egyetlen digitális szekvencia sem. A találatlaltal bíró genomok közül azok,



4. ÁBRA. A három sertésbél-tartalombeli virom összetevőinek részarányai

FIGURE 4. Taxon proportions of the virome for intestinal contents of the three pigs

Részletesen jellemezték a beteg sertések vastagbélének bakteriomiáját és viromját

A metagenomika számos esetben felhasználható a mikrobiom jellemzésére

gyakorisággal (47,4%) a Lactobacillales rendhez tartozó fajok vannak jelen a bél-tartalomban. Ennek a rendnek a nemzetség- és fajszintű részarányai láthatók a 3. ábrán. Az 1%-os jelenlétet meghaladó baktériumrendek részarányuk szerinti csökkenő sorrendben a következők: *Veillonellales* (14,8%), *Clostridiales* (13,4%), *Bacteroidales* (7,3%), *Erysipelotrichales* (4,6%), *Enterobacterales* (3,5%), *Chlamydiales* (1,7%), *Spirochaetales* (1,5%). A betegség kialakításában központi szereppel bíró *Brachyspira hyodysenteriae* ez utóbbi, legkisebb részarányt képviselő rendbe tartozik.

Bár a betegség kialakításában vírusoknak nem tulajdonítanak szerepet, a viromra vonatkozó eredményeket is bemutatunk a 4. ábrán, amely azt jelzi, hogy annak jelentős része a bakteriofágokból származik.

MEGBESZÉLÉS

Az eredmények alapján betekintést kaptunk a sertésdizentéria jellemző klinikai tüneteit mutató három egyed vastagbélében található mikrobiomra vonatkozóan. Számos metagenomikai vizsgálatban a mikrobiom ilyen módon való leírása a cél. HOLMAN és mtsai több metagenomikai tanulmány adatainak felhasználásával végeztek metaanalízist a sertések közösnek tekinthető mikrobiomjának összefoglalása céljából (4, 6). A háziállatok egyes szervrendszeri mikrobiomjának vizsgálata mellett a fertőzéseket közvetítő vektorokban (pl. kullancsok, szúnyogok) előforduló mikroorganizmusok leírását célzó metagenomikai kutatások szintén fontos ismereteket nyújtanak. NARASIMHAN és FIKRIG széleskörű irodalmi áttekintésükben azt a reményt fogalmazzák meg, hogy a kullancsok mikrobiomjának megismerése jelentős előrelépés lehet a kórokozó-terjesztésük megértésében (13). Hasonló leírást mutattak be többek között DUGUMA és mtsai (5), MUTURI és mtsai csípőszúnyogok bélrendszerének mikrobiomjára vonatkozóan (11).

amelyekre több digitális szekvencia illeszkedett, nagyobb számban fordultak elő a mintában, míg, amelyekre kevesebb, azok kisebb számban. Erre alapozva a sertésbélben előforduló fajok részarányát számszerűsíthetjük, de nem fogalmazhatunk meg megalapozott állítást a mennyiségükre vonatkozóan. A mikrobiomot alkotó fajokat különböző taxonómiai szinteken szokás összesíteni, ennek ábrázolására a Krona szoftvert (14) használtuk.

EREDMÉNYEK

Az elemzési folyamat során az összes digitális szekvencia 94,5%-a bizonyult „szennyezőnek”, vagyis nem a mikrobiomhoz tartozó, a további eredményeket a leolvasások fennmaradó 5,5%-a alapján becsültük.

A három sertés vastagbéléből származó minta tartalmának metagenomikai elemzési eredményeiből mutat be három részletet a 2-4. ábra.

A bakteriom összetevőinek törzs- és osztályszintű részarányait mutatja be a 2. ábra. A leolvasott szekvenciák baktériumok referencia-szekvenciáira illesztésének rendszertű elemzése azt mutatta, hogy a legnagyobb

A metagenomikai vizsgálatok másik típusának tekinthető az a megközelítés, amikor valamilyen szempontból (pl. kezelés, életkor) *eltérő kondíciójú* csoportok mikrobiomját hasonlítják össze. WIRTH és mtsai arról számoltak be, hogy streptozotocinnal patkányokban kiváltott *cukorbetegség* milyen változásokat idéz elő a bél mikrobiomjában (20).

Probiotikumoknak a bél mikrobiótájára gyakorolt kedvező hatására vonatkozóan az állattartásban vannak gyakorlati tapasztalatok, azonban a mikrobiótában bekövetkező változásokról a hagyományos mikrobiológiai eszközökkel nehéz átfogó ismereteket szerezni. Többek között KIM és mtsai metagenomikai vizsgálata ad részletes képet probiotikumoknak a növendék sertések bélmikrobiótájában bekövetkező fajösszetétel-változásáról (7). SIEGERSTETTER és mtsai azt mutatták be, hogy a *fel nem vett takarmány (Residual Feed Intake, RFI)* mennyisége milyen változásokat eredményez brojlercsirkék mikrobiótájában (16). LU és mtsai azt találták, hogy sertések bélsár-mikrobiótájának változékonyságából jól becsülhető a hízalás hatékonysága (hátszalonna-vastagság, napi testtömeg-gyarapodás), így hasznos *indikátorként* kezelhető a termelésben (10). Azaz a bélsár-mikrobióta változékonyságának mérése akár a *precíziós állattartás* eszköztárába is beemelhető gyakorlati eszközzé válhat (8).

A metagenomikai vizsgálatokat is lehetővé tevő újgenerációs szekvenálásra (*Next Generation Sequencing, NGS*) épülő megközelítések az orvosi biológiai kutatásokban egészen új távlatokat nyitnak, és számos területen már paradigmaformáló eredményekhez vezetnek (17, 18, 19). A metagenomikai kutatások jelentősen gyarapítják tudásunkat az állattartás és az állategészségügy szempontjából fontos területeken is. Ugyanakkor az új eredményeket kellő szakmai mértékletességgel kell fogadni és beilleszteni korábbi ismereteink közé. Ez nyilvánvalóan tudományos vitákat eredményez, ahogy RAINARD munkája is példázza a kérődzők tőgygyulladásának oktatát megfogalmazó új „mammary microbiota”-elmélet kapcsán (15). A természet-tudományos modellekbe vetett hitünk alapján reméljük, hogy azok egyre jobban és jobban írják le a természet szabályait, így az új nagy áteresztőképességű technológiák (pl. NGS) is ismereteink pontosítását segítik. Fontos megjegyezni azonban azt, hogy ezen a területen az információtechnológiai ismeretek (és gyakorlat) nélkül nem lehet eredményeket elérni. A nemzetközi és hazai tapasztalatok alapján az is látszik, hogy az az optimális, ha ezekkel az ismeretekkel a kutatási terület szakemberei, vagyis orvosok, állatorvosok, gyógyszerészek rendelkeznek. Emiatt fontos, hogy az állatorvosképzésben az ez irányú elméleti és gyakorlati képzés jelen legyen (12).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A vizsgálatok a Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Karának KK-UK-2014. pályázati támogatásával valósultak meg.

A metagenomikai vizsgálatokat is lehetővé tevő újgenerációs szekvenálásra épülő megközelítések új távlatokat nyitnak az orvosi biológiai kutatásokban

Az adatok elemzéséhez az információtechnológiai ismeretek elengedhetetlenek

IRODALOM

1. ADORJÁN A. – RAFAI P. – PAPP Z. – BRYDL E. – JAKAB L. – KOVÁCS P. – JURKOVICH V. – MAKRAI L. – BALKÁ GY. – KOVÁCS M. – BATA Á. – KÖNYVES L.: Antibakteriális hatású kísérleti takarmányadalékok hatékonyságának vizsgálata *Brachyspira hyodysenteriae*-vel fertőzött malacokban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2016. 138. 77–87.
2. ANDERSON, S.: Shotgun DNA sequencing using cloned DNase I-generated fragments. *Nucleic Acids Res.*, 1981. 9. 3015–3027.
3. CHASE, C. C. L.: Enteric Immunity: Happy Gut, Healthy Animal. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2018. 34. 1–18.
4. DINYA E. – SOLYMOSSI N.: Biometria a klinikumban 2. Feladatok megoldása R-környezetben. Medicina, Budapest, 2016.
5. DUGUMA, D. – HALL, M. W. et al.: Developmental succession of the microbiome of Culex mosquitoes. *BMC Microbiology*, 2015. 15. 140.

6. HOLMAN, D. B. – BRUNELLE, B. W. et al.: Meta-analysis To Define a Core Microbiota in the Swine Gut. *mSystems*, 2017. 2. e00004-17
7. KIM, J. – KIM, J. et al.: Influences of quorum-quenching probiotic bacteria on the gut microbial community and immune function in weaning pigs. *Anim. Sci. J.*, 2018. 89. 412–422.
8. KÖNYVES L. – REIBLING T. – BODOR A. – BRYDL E. – ADORJÁN A. – SOLYMOI N.: Egy precíziós állattartási projekt tapasztalatai. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2015. 137. 719–727.
9. LI, H.: Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv*, 2013. 1303.3997v2.
10. LU, D. – TIEZZI, F. et al.: Host contributes to longitudinal diversity of fecal microbiota in swine selected for lean growth. *Microbiome*, 2018. 6. 4.
11. MUTURI, E. J. – RAMIREZ, J. L. et al.: Comparative analysis of gut microbiota of mosquito communities in central Illinois. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2017. 11. e0005377.
12. NAGY S. – TÖZSÉR D. – SZOMBATH G. – BARANYI D. – REIBLING T. – BIKSI I. – SOLYMOI N.: Statisztikai ellenőrző diagramok az állati-termék-előállításban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2017. 139. 515–523.
13. NARASIMHAN, S. – FIKRIG, E.: Tick microbiome: the force within. *Trends Parasitol.*, 2015. 31. 315–323.
14. ONDOV, B. D. – BERGMAN, N. H. – PHILLIPPY, A. M.: Interactive metagenomic visualization in a Web browser. *BMC Bioinformatics*, 2011. 12. 385.
15. RAINARD, P.: Mammary microbiota of dairy ruminants: fact or fiction? *Vet. Res.*, 2017. 48. 25.
16. SIEGERSTETTER, S. – SCHMITZ-ESSER, S. et al.: Intestinal microbiota profiles associated with low and high residual feed intake in chickens across two geographical locations. *PLoS One*, 2017. 12. e0187766.
17. SPISÁK, S. – LAWRENSEN, K. et al.: an epigenome- and genome-editing pipeline for establishing function of noncoding GWAS variants. *Nat Med.*, 2015. 21. 1357–1363
18. SPISÁK S. – SOLYMOI N. – ITTÉZS P. – BODOR A. – KONDOR D. – VATTAY G. – BARTÁK K. B. – SIPOS F. – GALAMB O. – TULASSAY Z. – SZÁLLÁSI Z. – RASMUSSEN S. – SICHERITZ-PONTEN T. – BRUNAK S. – MOLNÁR B. – CSABAI, I.: Complete genes may pass from food to human blood. *PLoS One*, 2013. 8. e69805.
19. TAKEDA, Y. D. – SPISÁK, S. et al.: A somatically acquired enhancer of the androgen receptor is a noncoding driver in advanced prostate cancer. *Cell*, 2018. accepted
20. WIRTH R. – BÓDI N. – MARÓTI G. – BAGYÁNSZKI M. – TALAPKA P. – FEKETE É. – BAGI Z. – KOVÁCS KL. Regionally distinct alterations in the composition of the gut microbiota in rats with streptozotocin-induced diabetes. *PLoS One*, 2014. 9. e110440.
21. WOOD, D. E. – SALZBERG, S. L.: Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments. *Genome Biology*, 2014. 15. R46.

Közlésre érke.: 2018. máj. 7.

TALLÓZÁS

THELAZIA CALLIPAEDA OKOZTA FERTŐZÉS KUTYÁKBAN ÉS MACSKÁBAN MAGYARORSZÁGON

Farkas R, Takács N, Gyurkovszky M, Henszelmann N, Kisgergely J, Balka Gy, Solymosi N, Vass A. *Parasites and Vectors* 2018. 8;11(1):338. (szabadon hozzáférhető)

Európában a *Thelazia callipaeda* okozta első fertőzéseket olaszországi kutyák szemében figyelték meg három évtizeddel ezelőtt. Azóta több nyugat európai ország házi és vadon élő húsevőiben, valamint néhány ottani emberben is megállapították a muslicák közé tartozó kétszárnyú által közvetített féregfertőzést. Az elmúlt években kutya, róka, macska és ember autochton jellegű thelaziozist írták le Kelet-Európában is. Az első *T. callipaeda* fertőzéseket Szlovákia és Magyarország keleti, ill. déli területein élő kutyákban figyelték meg. A szerzők összesen 116, fehér színű férgest (kutyánként 1–37 db, átlag 7, a macskában 7 db) találtak 10 kutya és egy macska egy, vagy mindkét szemének kötőhártyaszákjában és/vagy harmadik szemhéja alatt. Morfológiai és molekuláris biológiai vizsgálattal minden esetben *T. callipaeda* okozta a szemférgességet állapították meg. A mitokondriális citokróm oxidáz 1-es alegység génjének nukleotidszekvenciája alapján valamennyi esetben a *T. callipaeda* 1-es haplotípusa fordult elő. A fertőzött állatok nem volt külföldön, ezért az eseteket autochton fertőzéseknek lehet tekinteni. A közlemény az első macskát, ill. 10 kutyát érintő thelaziozistról számol be. További kutatások szükségesek annak felderítésére, hogy a vadon élő húsevők (róka, arany sakál) mennyiben tölthetnek be rezervoárszerepet a parazitózis hazai előfordulásában.