

Állatorvostudományi Egyetem
Állatorvostudományi Doktori Iskola
Aujeszky Aladár Elméleti
Állatorvostudományok Doktori Program



Források One Health szemléletű vizsgálata az
antimikrobiális rezisztenciagének
állat-ember-transzfer folyamatában

PhD-értekezés tézisei

Tóth Adrienn Gréta

Témavezető

Dr. Solymosi Norbert
Bioinformatikai Központ
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest

Bírálóbizottsági tagok

Prof. Harrach Balázs
kutató professzor emeritus
HUN-REN Állatorvostudományi
Kutatóintézet
elnök

Dr. Szmolka Annamária
tudományos főmunkatárs
HUN-REN Állatorvostudományi
Kutatóintézet
bíráló (külső)

Dr. Hornok Sándor
egyetemi tanár
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest
belső tag

Dr. Müller Viktor
egyetemi docens
Eötvös Loránd Tudományegyetem
külső tag

Dr. Ligeti Balázs
egyetemi docens
Pázmány Péter Katolikus Egyetem
tartalék külsős tag

Prof. Gálfi Péter
egyetemi tanár
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest
belső tag (tartalék elnök)

Dr. Fodor László
egyetemi tanár
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest
bíráló (belső)

Dr. Dunay Miklós Pál
egyetemi docens
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest
belső tag

Dr. Szekeres Sándor
egyetemi adjunktus
Állatorvostudományi Egyetem
Budapest
belső tag (titkár)

Dr. Adorján András
egyetemi adjunktus
Magánpraxis
tartalék külsős tag

Készült 8 példányban, ez a(z) . . . számú példány.

1 A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

Az antimikrobiális rezisztencia (AMR) korunk orvostudományának egyik legjelentősebb kihívása, melyet több nemzetközi gazdasági, politikai és egészségügyi szervezet, például a WHO (World Health Organization) is napjaink 10 legfenyegetőbb, világszintű közegészségügyi problémája közé sorol. Az AMR térnyeréséhez az antibiotikumok használata nagy mértékben hozzájárul, a jelenség kialakításáért és a negatív hatások megnyilvánulásáért azonban az antimikrobiális rezisztenciagének (ARG-k) felelősek. Az ARG-k természetes módon, a mikroorganizmusok egymással folytatott versenye miatt is előfordulnak a mikrobiomban. Mivel ezek a gének baktériumok között horizontális géntranszfer útján átadhatók, ha kórokozó baktériumba jutnak, annak klinikai következménye az antibiotikumok hatékonyságának csökkenése. A horizontális géntranszfer bekövetkezéséhez számos feltételnek teljesülnie kell, melyek közül az egyik legfontosabb a mobilitást elősegítő genetikai elemek jelenléte. A mobilitást elősegítő genetikai elemek különböző mechanizmusok útján lehetővé teszik a gének baktériumok közötti elmozdulását. Ennek megfelelően, ARG-k esetében a mobilitást elősegítő genetikai elemek jelenléte az AMR terjedésének alapvető kellékei. Annak az ismerete, hogy milyen közegekben teljesülnek a terjedés feltételei, és milyen ARG-k juthatnak az emberi szervezetbe a különböző lehetséges forrásokból, kulcsfontosságú lehet az AMR terjedési útvonalaik pontosabb feltérképezése és megértése, valamint a folyamat ütemének csökkentése érdekében. Egyes források szerint, a világ antibiotikum-felhasználásának 70%-a állattartással összefüggő tevékenységekhez köthető. A jelentős antibiotikum-felhasználás folyamatos szelekciós nyomást gyakorol az állatokban, valamint az állatok közvetlen környezetében található baktériumokra, azok ARG-készletét gya-

rapítva. Erre a feldúsult ARG-készletre már a közelmúltban is nagy figyelem irányult, a rezisztenciagének statikus, csupán a jelenlétre vagy a hiányra alapozott vizsgálata azonban csak kevésbé alkalmas az egyes minták valós közegészségügyi kockázatának felmérésére. Az olyan nagyszabású, dinamikus tulajdonságokra is kiterjedő vizsgálatok, melyek segítségével pontosabb képet kaphatunk az egyes gének baktériumok közötti elmozdulási képességéről, csupán az elmúlt pár évben terjedtek el. Ennek hátterében a nagy áteresztőképességű szekvenálási technológiák fejlődése és egyre megbízhatóbbá, elérhetőbbé válása állt.

Kutatásaink során olyan állati eredetű forrásokat vizsgáltunk shotgun újgenerációs szekvenálásra alapozott bioinformatikai módszerekkel, amelyekből ARG-k juthatnak az emberi szervezetbe. Az ARG-k közvetett és közvetlen módon is átadódhatnak az állatok és az emberek között, így a kutatások során az AMR terjedésében szerepet játszó közegek legszélesebb spektrumát tártuk fel.

A célunk olyan baktériumokat nagy számban hordozó minták felmérése volt, amelyekkel számos hétköznapi szituáció során találkozhatnak az emberek.

Számos állati eredetű élelmiszer nagy mennyiségű élő baktériummal együtt kerül fogyasztásra (nyers és probiotikus termékek). A haszonállattartással összefüggő, feldúsult rezisztenciagén-készlettel rendelkező baktériumok más szállítóközegekben, így például a bélsárban is nagy mennyiségben lehetnek jelen, ez pedig gazdák, az állatgondozók, valamint a telepek közelében élő lakosság egészségi állapotát is befolyásolhatja. A kedvtelésből tartott állatokkal sok gazda által fenntartott rendkívül szoros fizikai kontaktus, valamint az ezen társállatoknál egyre átlagosabbá, rendszeresebbé váló állatorvosi beavatkozások hozzá-

járulhatnak az ARG-k állatokból emberekbe való átadódásához (pl. a kutyák nyála).

2 Az értekezés új tudományos eredményei

1. TÉZIS: A hőkezelés nélkül fogyasztott élelmiszerek, például a nyers tej, antimikrobiális rezisztenciagéneket közvetíthetnek, és hozzájárulhatnak az antimikrobiális rezisztencia terjedéséhez.

Számos ARG volt kimutatható a nyerstej-mintákban, köztük a plazmideredetű *blaZ* is. Bizonyos ARG-k az *Acinetobacter* nemzetség tagjaiból származtak. A nyerstej fogyasztása ennek megfelelően különös közegészségügyi jelentőséggel bírhat.

2. TÉZIS: Az állattartó telepekről származó tej antimikrobiális rezisztenciagéneket hordozó baktériumokat tartalmazhat, amelyek közvetlen kapcsolatba kerülhetnek a tejtermékek fermentációs folyamatában alkalmazott, a fermentáció során gyakran tovább szaporodó probiotikus baktériumtörzsekkel, elősegítve az antimikrobiális rezisztencia terjedését.

A joghurt és kefir fermentációs folyamataiban részt vevő baktériumokban 23 különböző ARG-típus volt kimutatható, amelyek több, az emberi gyógyászatban kritikus fontosságú antibiotikumcsoport hatékonyságát csökkenthetik. Ezek közül az *ImrD* gén potenciálisan mobilisnak bizonyult. A fermentáció során az élelmiszerek ARG-tartalma a baktériumok szaporodása során növekedhet. Így a fermentált élelmiszerek starterkultúráinak monitorozása és az alkalmazott törzsek gondos kiválasztása szükséges lenne annak érdekében, hogy csökkentsük az ARG-k élelmiszerekkel történő bevitelét.

3. TÉZIS: Az élelmiszer-fermentációhoz és probiotikus étrend-kiegészítők előállításához használt probiotikus baktériumtörzsek széles körben tartalmazhatnak potenciálisan mobilis antimikrobiális rezisztenciagéneket.

A probiotikus baktériumtörzsek közül a *Bifidobacterium animalis* és a *Lactococcus lactis* különösen gazdagnak bizonyult ARG-kben. Ezzel szemben a *Lactobacillus casei* és a *Lactobacillus paracasei* nem tartalmazott ARG-t, a *Lactobacillus delbrueckii*, a *Lactobacillus helveticus* és a *Lactobacillus brevis* pedig ARG-szegény fajoknak bizonyultak. A vizsgált probiotikus baktériumtörzsekben és probiotikus termékekben számos esetben az ARG-k mobilitási potenciálja is igazolásra került. Bár a mobilis ARG-k megszerzése nem feltétlenül eredményez fenotípusosan is megnyilvánuló AMR-t, az eredmények alapján az élelmiszeriparban felhasznált probiotikus baktériumtörzsek ellenőrzésére vonatkozó ajánlásokat ezen mobilis ARG-k jelenlétének ellenőrzésére is érdemes lenne kiterjeszteni.

4. TÉZIS: Kutyanyálminták vizsgálata alapján, a házi kedvencekkel való szoros fizikai kapcsolat hozzájárulhat az antimikrobiális rezisztencia terjedéséhez.

A kutyák nyálával összefüggésbe hozható, kutyaharapások során leggyakrabban izolált baktériumok genomjában a vizsgálataink során 69 ARG típus volt kimutatható. Számos ARG, köztük az amoxicillin–klavulánsavval szembeni ARG-k potenciálisan mobilisnak bizonyultak. Eredményeink szerint a kutyanyál ARG-kben gazdag baktériumok forrása lehet és szerepet játszhat az AMR fajok közti terjedésében.

5. TÉZIS: A haszonállatokhoz kapcsolódó minták, például a sertésbelsár mobilis antimikrobiális rezisztenciagéneket tartalmazhat.

A sertések metagenomikai bélsárvizsgálata során 54 különböző ARG volt kimutatható, melyek közül sok mobilisnak is bizonyult. A hasonló, intenzív állattartó telepeken végzett felmérések értékes betekintést nyújthatnak az AMR megjelenésének és terjedésének mechanizmusába.

3 A PhD-hez kapcsolódó publikációk jegyzéke

1. Tóth A. G., Csabai I., Krikó E., Tőzsér D., Maróti G., Patai Á. V., Makrai L., Szita G., Solymosi N. (2020a): Antimicrobial resistance genes in raw milk for human consumption. *Scientific Reports*, 10(1). 7464.
2. Tóth A. G., Csabai I., Maróti G., Jerzsele Á., Dubecz A., Patai Á. V., Judge M. F., Nagy S. Á., Makrai L., Bányai K., G. Szita, N., Solymosi (2020b): A glimpse of antimicrobial resistance gene diversity in kefir and yoghurt. *Scientific Reports*, 10(1). 22458.
3. Tóth A. G., Csabai I., Judge M. F., Maróti G., Becsei Á., Spisák S., Solymosi N. (2021a): Mobile antimicrobial resistance genes in probiotics. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(11). 1287.
4. Tóth A. G., Papp M., Jerzsele Á., Borbély F., Reibling T., Makrai L., Solymosi N. (2021b): Szoptató kocák bélsár-rezisztómja egy hazai nagy létszámú sertésállományban. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 143(4). 203-214.
5. Tóth A. G., Tóth I., Rózsa B., Dubecz A., Patai Á. V., Németh T., Kaplan S., Kovács E. G., Makrai L., Solymosi N.

- (2022a): Canine saliva as a possible source of antimicrobial resistance genes. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(11). 1490.
6. Tóth A. G., Judge M. F., Nagy S. Á., Papp M., Solymosi N. (2023a): A survey on antimicrobial resistance genes of frequently used probiotic bacteria, 1901 to 2022. *Eurosurveillance*, 28(14). 2200272.
 7. Tóth I., Tóth A. G., Solymosi N. (2024a): Az új generációs genom szekvenálás lehetséges helye a kutyaharapások kezelésében. *Magyar Sebészet*, 77(4). 89–93.
 8. Tóth A. G. (2021): A One Health approach study on alimentary products, sources in the process of animal-to-human antimicrobial resistance gene transfer. One Health Antimicrobial Stewardship Conference. Előadás. Alberta, Canada.
 9. Tóth A. G., Tóth I., Rózsa B., Dubecz A., Patai Á. V., Németh T., Makrai L., Solymosi N. (2022b): Canine saliva: a possible interspecies medium for mobile antimicrobial resistance genes. 47th World Small Animal Veterinary Association Congress and XVIII FIAVAC Congress. Poszter. Lima, Peru.
 10. Tóth A. G., Tóth D. L., Rempert L., Tóth I., Németh T., Dubecz A., Patai Á. V., Makrai L., Solymosi N. (2024b): A One Health approach metagenomic study on the antimicrobial resistance traits of canine saliva. Antimicrobial Resistance – Genomes, Big Data and Emerging Technologies Conference. Poszter. Wellcome Genome Campus, Hinxton, UK.