

## Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei

Házinyúl eredetű *Staphylococcus aureus* törzsek  
molekuláris jellemzése

dr. Német Zoltán

Témavezető: Dr. Biksi Imre



ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM  
Állatorvostudományi Doktori Iskola

Budapest, 2020

## Tartalomjegyzék

<b>1.</b>	<b>A doktori értekezés előzményei és célkitűzései..</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Az értekezés új tudományos eredménye.....</b>	<b>4</b>
2.1	<i>Hazai nyúltelepekről származó Staphylococcus aureus baktériumtörzsek molekuláris jellemzése.....</i>	<i>4</i>
2.2	<i>A genotípus és az organotropizmus összefüggéseinek statisztikai vizsgálata.....</i>	<i>4</i>
2.3	<i>52 házinyúl eredetű Staphylococcus aureus teljes genomszekvencia meghatározása.....</i>	<i>5</i>
2.4	<i>Egy tipikus és egy atipikus virulens változat genomszekvenciájának összehasonlító elemzése.....</i>	<i>5</i>
<b>3.</b>	<b>Publikációk.....</b>	<b>8</b>

## 1. A doktori értekezés előzményei és célkitűzései

A staphylococcosis a modern nagyüzemi nyúlhús termelésben az egyik legfontosabb fertőző betegség. A *Staphylococcus aureus* egy változatos opportunistá patogén mikroorganizmus, amely az üzemi termelő állományokban, környezetükben és a dolgozóknban egyaránt képes tartós túlélésre és szaporodásra. A kórokozó számos kórkép kialakításában játszhat szerepet állatokban és emberekben egyaránt.

A házinyúl staphylococcosisát vizsgáló tudományos munkák klinikai, kórbonctani és járványtani szempontból is változatos képet mutatnak. A nagy virulenciájú változatok jelenlétét minden jelentős nyúltermelő országban igazolták, az ilyen kórokozók által kirobbantott járványok elfojtására az érintett állományok teljes felszámolása volt az egyetlen megoldás. A jelen dolgozatban összefoglalt munka a magyar nyúltenyésztők kérésére indult. A termelésben elszenvedett veszteségek és a kezelési programok sikertelensége miatt az a felkérés fogalmazódott meg, hogy az állatorvosi gyakorlat ezen ágában történjenek jelentős fejlesztések.

A munka célja az volt, hogy az állományok felmérése, a baktériumtörzsek összegyűjtése és vizsgálata olyan információkkal szolgáljon, amelyekre hatékony kezelési és megelőzési módszereket lehet alapozni.

## 2. Az értekezés új tudományos eredménye

### 2.1 Hazai nyúltelepekről származó Staphylococcus aureus baktériumtörzsek molekuláris jellemzése

Tíz év alatt több száz teleplátogatás és több ezer kórbonctani-diagnosztikai vizsgálat eredményeként létrehoztam egy jelenleg több mint 500 izolátumot tartalmazó törzsgyűjtemény. Molekuláris genotipizálásra egy multiplex PCR rendszert vezettünk be a standard diagnosztikai protokollba. A nagy virulenciájú változatot azonosítottuk néhány magyar állományban, később ezek a törzsek az olasz és spanyol telepeken talált ST121/t645 törzsekkel nagyfokú genetikai hasonlóságot mutattak. A hazai telepeken a leggyakoribb genotípus egy atipikus nagy virulenciájú vátozat, hasonló törzseket Belgiumban izoláltak egy járvány során 1996-ban.

### 2.2 A genotípus és az organotropizmus összefüggéseinek statisztikai vizsgálata

A különböző szervrendszerekből kimutatott különböző virulencia változatok adatainak statisztikai elemzése szignifikáns összefüggéseket fedett fel. A nagy virulenciájú változatok erősen korreláltak a septicaemiával. Az alacsony virulenciájú változatok és a nem Staphylococcus aureus fajba tartozó Staphylococcus törzsek jellemzően helyi bőrelváltozásokkal vannak kapcsolatban.

### 2.3 52 házinyúl eredetű *Staphylococcus aureus* teljes genom szekvencia meghatározása

Illumina új generációs szekvenálási platformon végeztünk nagy lefedettségű (100-szorosnál nagyobb) teljes genom szekvenálást házinyúl eredetű *Staphylococcus aureus* baktériumtörzseken. Az adatokat az NCBI Genbank és a European Nucleotide Archive rendszereiben szabadon hozzáférhető módon publikáltuk, az eredmény mind mennyiségében mind minőségében jelentős mértékben növeli a tématerülettel foglalkozó gyakorló és kutató kollégák számára hozzáférhető nukleinsav-szekvencia források gyűjteményét.

### 2.4 Egy tipikus és egy atipikus virulens változat genom szekvenciájának összehasonlító elemzése

Két teljes genom draft szekvencia összehasonlító elemzését végeztem el két megközelítésben. A teljes genom szekvenciák párhuzamos illesztése azt mutatta, hogy a két változat a két genotípus a *Staphylococcus aureus* faj két egymástól távoli változatát képviseli. A két genom között számos inzerációs-deléciós régiót azonosítottunk, többek között egy 39 kbp hosszúságú fáginzerciót az ST121 törzsben, és a genom egy másik területén egy 42 kbp hosszúságú fáginzerciót az atipikus (ST5993) nagy virulenciájú törzsben. A két fáginzerció

párhuzamosan illesztése a kódoló régiók főbb struktúrájának hasonlóságát mutatja, de a bázissorrend alapú hasonlósága mindössze 51,8%. Számos kisebb, de akár 15 kbp hosszúságú inzerció-deléción régió található még a két genomban.

63 virulenciagén nukleotid bázissorrendjének összehasonlításával azt állapítottuk meg, hogy az extracelluláris enzimeket kódoló gének általában nagyon hasonlóak, de az enterotoxin gén klaszter – amely a nagy és kis virulenciájú változatok elkülönítésének alapja a multiplex PCR rendszerben – teljesen hiányzik az atipikus nagy virulenciájú törzsből. A sejtfelületi fehérjék és adhéziós faktorok tekintetében jelentős különbséget találtunk a két genotípus között. Eredményeim igazolják, hogy a Magyarországon leggyakoribb virulenciaváltozat a tipikus magas virulenciájú törzsektől markánsan elkülönülő, saját klonális komplexet alkotó változat.

## 2.5 64 házinyúl eredetű *Staphylococcus aureus* teljes genomszekvencia összehasonlítása és járványtani elemzése teljes genom MLST módszerrel

A saját törzsek mellett a génbankokban elérhető összes házinyúl eredetű, négy európai országból származó *Staphylococcus aureus* izolátum, összesen 64 teljes genomszekvenciát hasonlítottunk össze teljes genom MLST módszerrel. A vizsgálat megerősítette a virulens ST121 változat klonális eredetét, a hazai izolátumok nagyfokú azonosságot mutattak az olasz és a spanyol nyúltelepekről származó törzsekkel, így minden kétséget

kizáró megerősítést nyert korábbi megállapításunk, miszerint a magyarországi nyúltelepeken tapasztalt járványkitörések egy pandémia részjelenségei.

Szintén megerősítettünk az itthon leggyakoribb, de máshol ritkán izolált atipikus változat (aHV-ST5993) klonális eredetét.

A kis virulenciájú változatok szekvenálása változatosabb eredményt mutatott. A törzsek többsége a teljes genomszekvencia MLST során vizsgált 3897 kódoló régió összehasonlítása alapján egy harmadik klonális klasztert (LV-ST2855) alkot a változatos MLST és spa típusai ellenére.

Eredményeim azt igazolják, hogy a nyúltelepeken akár három alapvetően különböző klonális *Staphylococcus aureus* változat is jelen lehet. Ez alapján az házinyúllal kapcsolatos állatorvosi diagnosztikai, preventív és terápiás gyakorlatban a virulenciaváltozatok molekuláris módszerekkel való elkülönítésének eredménye feltétlenül szükséges információ a hatékony védekezést eredményező döntéshez.

### 3. Publikációk

Német, Zoltán ; Szenci, Ottó ; Biksi, Imre

**A házi nyúl staphylococcosisa : Irodalmi áttekintés és hazai tapasztalatok**  
**Staphylococcosis in domestic rabbit. Literature review and domestic experiences**

MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA 133 pp. 720-726. , 7 p. (2011)

Német, Zoltán ; Albert, Ervin ; Nagy, Krisztina ; Csuka, Edit ; Dán, Ádám ; Szenci, Ottó ; Hermans, Katleen ; Balka, Gyula ; Biksi, Imre

**Virulence type and tissue tropism of *Staphylococcus* strains originating from Hungarian rabbit farms**

VETERINARY MICROBIOLOGY 193 pp. 1-6. , 6 p. (2016)

Nemet, Zoltan; Albert, Ervin; Nagy, Tibor ; Olasz, Ferenc ; Barta, Endre ; Kiss, János ; Dan, Adam ; Banyai, Krisztian ; Hermans, Katleen ; Biksi, Imre

**Draft Genome Sequence of an Atypical Highly Virulent Rabbit *Staphylococcus aureus* Strain.**

GENOME ANNOUNCEMENTS 5 : 42 Paper: e01049-17 (2017)

Nemet, Zoltan; Albert, Ervin ; Nagy, Tibor ; Olasz, Ferenc ; Barta, Endre ; Kiss, Janos ; Dan, Adam ; Banyai, Krisztian ; Hermans, Katleen ; Biksi, Imre

**Draft Genome Sequence of a Highly Virulent Rabbit *Staphylococcus aureus* Strain.**

GENOME ANNOUNCEMENTS 3 : 4 Paper: e00461-15 , 2 p. (2015)