

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

**Multirezisztens *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztencia
és virulencia génjeinek molekuláris epidemiológiai
elemzése**

PhD értekezés tézisei

Szmolka Annamária (Ama)

MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete

2011

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető:

.....

Prof. Dr. Nagy Béla, az MTA rendes tagja
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete, Budapest

Témabizottsági tagok:

.....

Prof. Dr. Tuboly Tamás, PhD
SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Budapest

.....

Dr. Fekete Péter Zsolt, PhD
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete, Budapest

.....

Dr. Imre Ariel, PhD
MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézete, Budapest

Bevezetés

Az értekezés címe által jelzett téma egymással összefüggésben, de nem feltétlen szoros kapcsolatban lévő vizsgálatokat és feladatköröket takar, melyek az élelmiszerlánc különböző pontjairól származó *E. coli* baktériumok bizonyos, klinikai jelentőséggel bíró antibiotikum rezisztencia és virulencia génjeinek együttes vizsgálatán keresztül egyazon fő kérdést igyekeztek megválaszolni: nevezetesen, hogy az antibiotikumok humán- és állategészségügyi alkalmazása során bekövetkező szelekciós nyomás jelentheti-e a rezisztenciával együtt a virulencia tulajdonságok fokozott térnyerését is ?

Az antibiotikum rezisztencia fenó- és genotípusának valamint a virulencia gének mintázatának együttes vizsgálata, továbbá azok terjesztésében szerepet játszó konjugatív plazmidok és egyéb mobilis elemek jellemzése napjainkban egyre nagyobb hangsúlyt kap, mivel előrevetítheti a humán és állati szempontból egyaránt jelentős új, kombinált genotípusok megjelenését. Ezen esetleges asszociációkat illetően azonban a patogén (klinikai) törzsekhez képest kevés információval rendelkezünk a humán és állati eredetű kommenzalista *E. coli* törzsekre vonatkozóan, és különösen hiányoznak e téren a molekuláris epidemiológiai megközelítéssel gyűjtött adatok.

E szemlélet jegyében munkánk első szakaszában a sertések választási hasmenéséből izolált *E. coli* törzsek vizsgálatán keresztül a közép-európai régiót (Magyarország, Ausztria, Cseh Köztársaság) képviselő enterotoxikus *E. coli* (ETEC) törzsek antibiotikum rezisztencia és virulencia génjeiről gyűjtöttünk összehasonlító adatokat, különös tekintettel a tetraciklin rezisztencia gének hordozásáért felelős plazmidokra, s ezekben található további mobilis genetikai elemekre.

A továbbiakban az egyik leggyakrabban alkalmazott aminoglikozid antibiotikum, a gentamicin széleskörű terápiás használatának a többszörös rezisztenciák és az esetleges kísérő virulencia tulajdonságok kialakulására vonatkozó hatását kívántuk áttekinteni.

A hiánypótló jelleggel végzett vizsgálataink elsődleges célja volt, hogy a haszonállatokból és humán mintákból származó gentamicin rezisztens klinikai és kommenzalista *E. coli* törzsek többszörös antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusainak minél átfogóbb jellemzését adjuk.

Végül, munkánk utolsó szakaszában, tekintettel a plazmidon kódolt kinolon rezisztencia állattartásban is világszerte egyre növekvő problémájára és az európai sertéseket illető adatok hiányára két, jelenleg is intenzív sertéstartással jellemezhető ország, Románia és Magyarország egy-egy nagyüzemi sertéstelepének felméréséből származó multirezisztens *E. coli* törzsek esetleges plazmidon kódolt kinolon rezisztenciájának felkutatására és jellemzésére vállalkoztunk.

Célok

A fenti szemlélet jegyében vizsgálatainkat a tetraciklin-, a gentamicin-, és a plazmidon kódolt kinolon rezisztencia hármaskörére építve az alábbi főbb célokkal és címek alatt végeztük:

1. A *tet(A)* plazmidok szerepe az antibiotikum rezisztencia (és virulencia) gének átadásában választott sertések hasmenéséből izolált, multirezisztens enterotoxikus *E. coli* (ETEC) törzsekben.
2. Haszonállatokból és humán mintákból izolált aminoglikozid (gentamicin) rezisztens klinikai és kommenzalista *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusa, egyes gének esetleges kapcsolt előfordulása.
3. Plazmidon kódolt kinolon rezisztencia és esetlegesen társult virulencia gének azonosítása: kinolon rezisztenciát hordozó plazmidok jellemzése egészséges sertések bélcsatornájából származó multirezisztens kommenzalista *E. coli* törzsekben.

Anyagok és módszerek

Multirezisztens sertés enterotoxikus E. coli (ETEC) törzsek tet(A) plazmidjainak sajátosságai

A vizsgált hazai ETEC törzsek (n=16) mellett a törzsek egy része egyéb Közép-Európai országokból - Ausztria (n=34) és Cseh Köztársaság (n=17) - származott, míg 20 törzset az USA-ból kaptunk. A törzsek antibiotikum rezisztencia fenotípusát korongdiffúziós módszerrel határoztuk meg, majd a fenotípusosan tetraciklin rezisztens ETEC törzsekben a *tet* gén típusát a Gram-negatív enterális kórokozókban leggyakoribb *tet* osztályok alapján PCR segítségével határozzuk meg.

A tetraciklin rezisztencia (*tet*) és tipikus ETEC virulencia gének (*estA*, *estB*, *elt*, *f18*, *k88*) átvitelében szerepet játszó plazmidok jellemzése céljából, a tetraciklin rezisztens törzsek közül 8 *tet(A)* és 12 *tet(B)* F18⁺ ETEC törzset plazmid transzfer vizsgálatokra jelöltünk ki. A sikeres tetraciklin rezisztencia génátvitelt mutató *tet(A)*- és *tet(B)*-pozitív szülő-törzseket és kijelölt transzkonjugánsaikat további jellemzés céljából plazmid profil vizsgálatoknak, valamint antibiotikum rezisztencia és virulencia gének kimutatására irányuló PCR vizsgálatoknak vetettük alá.

Tekintettel a *tet(A)* ETEC plazmidokra vonatkozó adatok hiányára, a továbbiakban a két egyplazmidos, magyar és cseh transzkonjugáns törzsek (2172/11 és 11732/71) *tet(A)* plazmidjait jellemeztük. A plazmidok replikon típusát PCR alapú replikon tipizálással (PBRT) határoztuk meg. A magyar transzkonjugáns törzs 1-es típusú integronjának variábilis régióját megszekvenáltuk, és a JQ313793 génbanki szám alatt helyeztük el.

Gentamicin rezisztens E. coli törzsek multidrog rezisztencia és virulencia genotípusának jellemzése

A 2004-2008 közötti időszakban a hazai antibiotikum rezisztencia monitoring program keretében partner-laboratóriumunkban összesen 3477 baromfi, 1861 sertés és 1794 szarvasmarha eredetű *E. coli* törzs antibiotikum rezisztencia fenotípusának meghatározására került sor. A fenotípusosan gentamicin rezisztens (Gen^R) állati eredetű törzsek közül munkánk során összesen 12 baromfi, 13 sertés és 13 szarvasmarha törzs antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusát jellemeztük. Az állati törzsekkel való összehasonlítás céljából, 12 humán eredetű Gen^R *E. coli* törzs antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusát is meghatároztuk.

A törzsek részben egészséges szervezetből vagy nyers élelmiszerből (kommenzalista törzsek), részben pedig beteg szervezetből vagy elhullott állatoknak a betegség tüneteit mutató szerveiből (klinikai törzsek) származtak.

A rezisztencia génmintázat meghatározására a Gram-negatív baktériumok antibiotikum rezisztenciájának átfogó genetikai jellemzésére kifejlesztett „Identibac-AMR” PCR-microarray rendszert (ArrayTube™ AMR05) használtuk, mely rendszer összesen 62 klinikailag jelentős antibiotikum rezisztencia gén egyidejű kimutatását valamint az integron típusának meghatározását teszi lehetővé. A virulencia gének mintázatát egy, az előző rendszer elvét követő, *E. coli*-ra adaptált „Identibac Ec” microarray segítségével (ArrayTube™ Ec03) határoztuk meg, mely az *E. coli* 69 virulencia génjére (és azok számos szubtypusára) specifikus próbák segítségével a főbb virulencia géncsoportok kimutatását teszi lehetővé. A PCR-microarray adatait az antibiotikum rezisztencia és virulencia gének közötti és azokon belüli asszociációk kimutatására Pearson-féle korrelációval elemeztük.

A *qnrS1* kinolon rezisztencia plazmidok jellemzése sertés eredetű kommenzalista *E. coli* törzsekben

Egészséges sertések multidrog rezisztens (MDR) *E. coli* törzseinek molekuláris jellemzésére irányuló nemzetközi (EU FP6) együttműködés keretében Magyarország és Románia egy-egy nagy állatszámú sertéstelepének egészséges, választás előtti malacainak bélsár mintáiból izolált *E. coli* törzset vizsgáltuk.

A MDR sertés *E. coli* törzsek közül a *qnrS* gént összesen 17 törzsben mutattuk ki, melyek mindegyike a romániai (székelyföldi) sertéstelepről származott. E gyűjteményből random módon összesen 6 *qnrS1* törzset jelöltünk ki további genetikai vizsgálatokra valamint a *qnrS1* gént hordozó plazmidok jellemzésére. A törzsek antibiotikum rezisztencia és virulencia génmintázatának meghatározása az előbbieken már említett AMR05 illetve Ec03 PCR microarray rendszerek felhasználásával történt. Az egyazon sertéstelepről származó 6 *qnrS1* sertés eredetű *E. coli* törzs klonális kapcsolatát multilókusz szekvencia tipizálással (MLST) határoztuk meg.

A *qnrS1* gént hordozó plazmidok jellemzése céljából konjugációs kísérleteket végeztünk. A szülő és transzkonjugáns törzsek plazmid profil vizsgálatát követően a plazmidok replikon típusát PCR alapú replikon tipizálással (PBRT) határoztuk meg. A *qnrS1* gén IncN típusú plazmidon való lokalizációját a transzkonjugáns törzsekben *qnrS1*-specifikus Southern hibridizációval erősítettük meg. A továbbiakban a sertés eredetű *E. coli* *qnrS1* plazmidok restrikciós mintázatát értékeltük ki, két holland, humán eredetű *qnrS1*-pozitív *Salmonella* Kentucky transzformáns törzset használva kontrollként.

Végül az *qnrS1* gén genetikai környezetét az Ec48-1 jelű transzkonjugáns törzsben jellemeztük, és az IncN plazmid 3.6 kb méretű *qnrS1* gént tartalmazó fragmentjét a JN157839 génbanki szám alatt helyeztük el.

Fontosabb eredmények

Különböző geográfiai eredetű ETEC törzsek antibiotikum rezisztencia fenotípusa és tetraciklin rezisztencia génjei

A geográfiai eredetre való tekintet nélkül az itt vizsgált sertés eredetű ETEC törzsek többségének rezisztencia fenotípusa egy közös, szulfametoxazol (91%), tetraciklin (84%) és streptomycin (80%) alapú MDR „vázra” épült. Általában elmondható hogy a közép-európai törzsek az USA törzseknél alacsonyabb rezisztencia gyakorisággal jellemezhetők.

Az fenotípusosan tetraciklin rezisztens törzsekben a *tet(B)* genotípus dominált (38%), míg a *tet(A)* gén a törzsek 26%-ában volt jelen. Az egyes tetraciklin rezisztencia géntípusok és azok mintázatai a különböző geográfiai régiókat képviselő ETEC törzsek között eltérők voltak.

A tet(A) gént hordozó IncI1 plazmidok jellemzése sertés ETEC törzsekben

A magyar és cseh F18⁺ ETEC szülő törzsekben (2172 illetve 11732) és egyplazmidos transzkonjugánsaikban (2172/11 illetve 11732/71) lehetőségünk nyílt *tet(A)* gént hordozó ~138 illetve 106 kb plazmidok részletesebb vizsgálatára. Az itt jellemzett magyar és cseh transzkonjugáns törzsekben az IncI1 replikon típusú *tet(A)* plazmidok az általunk vizsgált, leginkább szóba jöhető ETEC virulencia gének hiánya alapján rezisztencia (pontosabban: mutirezisztencia) plazmidoknak tekinthetők.

A magyar Ec2172 törzsben az IncI1 plazmid a *tet(A)* gén mellett az *aadA1* (streptomycin/spektinomycin) és *strA* (streptomycin) rezisztencia gének átviteléért volt felelős, míg a cseh 11732 törzsben a *tet(A)-catA1* rezisztencia modul IncI1 közvetített transzferét mutattuk ki.

A hazai F18⁺ ETEC törzsben az *aadA1* gén egy klasszikus (*qacEΔ1⁺/sul1⁺*) 1-es típusú integron részét képezte, amely - a szekvencia adatok alapján - egy igen szokatlan összetételű, *estX-aadA1* kazettákból álló, streptotricin valamint streptomycin/spektinomycin antibiotikumokkal szembeni rezisztenciát meghatározó variábilis régiót tartalmazott.

Gentamicin rezisztens, állati és humán eredetű, klinikai és kommenzalista E. coli törzsek antibiotikum rezisztencia fenotípusa

A törzsek mindegyike multidrog rezisztenciát mutatott, és leggyakoribbak a tetraciklin (84%), ampicillin (82%) és a szulfametoxazol (80%) rezisztencia fenotípusok voltak. A humán egészségügyi szempontból kiemelt jelentőségű 3. generációs cefalosporinokkal (cefotaxim és ceftazidim) szembeni rezisztenciát mindössze néhány szarvasmarha törzsben mutattuk ki, viszont a humán törzsek viszonylag nagy százalékát (67% és 25%) jellemezte.

A vizsgált gentamicin rezisztens *E. coli* törzsek nagyfokú variabilitást mutató rezisztencia mintázatokkal rendelkeztek. A rezisztencia gének közül leggyakrabban a *bla*_{TEM} (ampicillin), *tet(A)* (tetraciklin), *strB* (streptomycin) és a szulfametoxazol rezisztenciáért felelős *sul1* géneket azonosítottuk, mely szépen egybecseng az MDR fenotípusra vonatkozó eredményekkel. A fenti antibiotikum rezisztencia gének az egyes törzsekben klinikai háttértől függetlenül fordultak elő, de számuk szignifikánsan ($p=0.03$) magasabb volt a klinikai törzsekben.

A gentamicin és egyéb aminoglikozid rezisztenciában szerepet játszó *aac(3)-I*, *ant2''-Ia* és *aac(6')-Ib* gének szinte kizárólag a humán *E. coli* törzseket jellemezték. Ehhez hasonlóan a klóramfenikol rezisztenciáért felelős *catB3* gén is csak a humán törzsekben volt kimutatható.

Virulencia genotípusok, valamint pozitív korrelációt mutató antibiotikum rezisztencia és virulencia gének a gentamicin rezisztens E. coli törzsekben

Összhangban a rezisztencia génekre vonatkozó eredményekkel a virulencia mintázatok is nagyfokú heterogenitást mutattak. A virulencia gének közül leggyakrabban az *iss* szérum rezisztencia gént azonosítottuk, amely a klinikai háttértől függetlenül a törzsek 70%-át jellemezte. A virulencia gének többsége azonban ritkán fordult elő és mindössze néhány törzsben volt kimutatható. Összességében, a virulencia gének előfordulási gyakorisága tekintetében a klinikai és kommenzalista törzsek között statisztikailag igazolható különbséget nem találtunk.

Néhány antibiotikum rezisztencia és virulencia gén között és azokon belül szoros korrelációt mutattunk ki, amelyek a *dfrA17* trimetoprim, és az *aadA4* streptomycin rezisztencia gének közötti asszociáció kivételével bizonyos gazdafajokat jellemeztek. Ennek megfelelően a humán eredetű törzsekben a *catB3*, *aac(6')-Ib* és *bla*_{CTX-M-1} rezisztencia gének és a *sat* SPATE gén kapcsolatát, míg a baromfi eredetű törzsekben a *tet(A)* génnek az *iroN* és *iss* virulencia génekkel való együttállását mutattuk ki.

A qnrS1 plazmidon kódolt kinolon rezisztencia gén kimutatása sertés eredetű, klonálisan elkülönülő kommenzalista E. coli törzsekben

A *qnrS1* plazmidon kódolt kinolon rezisztencia gént, egy romániai sertéstelep 6 egészséges állatából származó *E. coli* törzsben mutattuk ki és jellemeztük, ezzel tudomásunk szerint elsőként jelezve nem csak a *qnrS1*, hanem egyáltalán a plazmidon kódolt kinolon rezisztencia megjelenését európai sertés *E. coli* törzsekben. Annak ellenére, hogy a vizsgált *qnrS1 E. coli* törzsek ugyanarról a sertéstelepről származtak, három eltérő szekvencia típust (ST): az ST48, ST206 valamint az ST542 típusokat képviselték.

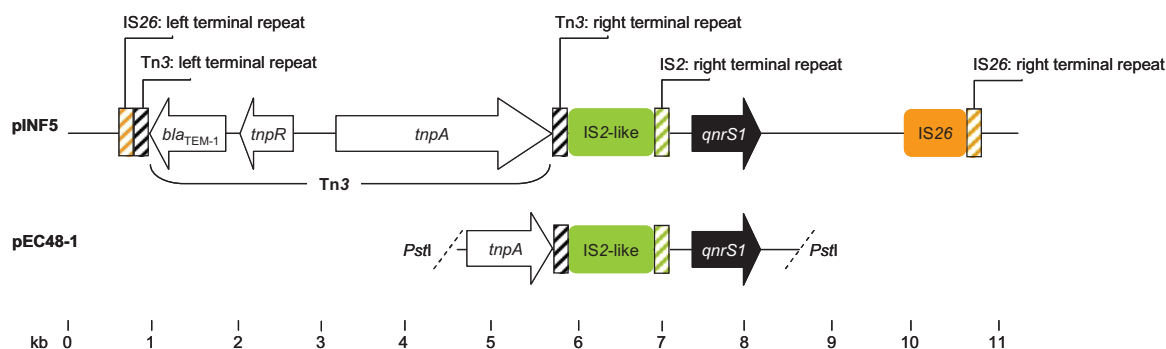
A *qnrS1* *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztencia fenotípusa, és genotípusa, és virulencia génjei

A vizsgált 6 sertés eredetű *E. coli* törzs antibiotikum rezisztencia mintázata nagyfokú hasonlóságot mutatott: a gentamicinen kívül valamennyien rezisztensek voltak egyéb aminoglikozidokra (kanamicin és streptomycin) is, de az ampicillin és tetraciklin rezisztencia is közös jellemzőjük volt. Az antibiotikum rezisztencia gének PCR-microarray vizsgálata az antibiotikum rezisztencia fenotípusra vonatkozó eredményeket igazolta: a kanamicin/streptomycin rezisztenciáért felelős gének közül az *aadA1*, *strA*, *strB* géneket, a *bla*_{TEM-1} ampicillin rezisztencia gént valamint a *tet(A)* tetraciklin rezisztencia gént azonosította. Virulencia gének tekintetében viszont a vizsgált törzsek meglehetősen szegényesek voltak, jelenlétük mindössze két törzsben volt kimutatható, melyek rezisztencia mintázata megegyezett, és virulencia génjeik is azonosak voltak, de egyidejűleg több különböző virulencia mechanizmust képviseltek.

A *qnrS1* gént hordozó *IncN* plazmidok jellemzése, és a *qnrS1* gén genetikai környezete

A vizsgált sertés *E. coli* törzsekben a *qnrS1* gént egy ~70 kb méretű *IncN* típusú plazmid hordozta. Ezen *E. coli* plazmidok *PvuII* restrikciós mintázata a sertés törzsekben azonos volt, de a *qnrS1* *IncN* kontrollként használt humán eredetű *S. Kentucky* plazmidoktól viszont lényegesen eltért. Az *IncN* plazmidok a *qnrS1* gén mellett egyéb, aminoglikozid (*aadA1*, *strA*, *strB*) ampicillin (*bla*_{TEM-1}) és tetraciklin (*tet(A)*) rezisztencia gének átvitelében is szerepet játszottak.

E plazmidok egyik képviselőjéből (pEc 48-1) származtatott klón 3.6 kb méretű *qnrS1* inszertjének szekvencia elemzésével megállapítottuk, hogy a vizsgált *qnrS1* gén környezete, egy csirke *Salmonella* Infantis-ból izolált pINF5 plazmid megfelelő kinolon rezisztencia régiójával (GenBank: AM234722) ≥99% -os homológiát mutat (Ábra).



Új tudományos eredmények és megállapítások

Értekezésem nemzetközileg is új tudományos eredményeit és megállapításait az alábbi tézisekben foglalom össze:

Multirezisztens sertés enterotoxikus E. coli (ETEC) törzsek tet(A) plazmidjainak jellemzése terén:

1. A korábban részletesen tanulmányozott, *tet(B)* osztályt képviselő tetraciklin rezisztenciáért és enterotoxigenitásért felelős hibrid plazmid (pTC) jellemzése után egy magyar és egy cseh sertés eredetű F18⁺ ETEC törzs *tet(A)* gént hordozó plazmidjait jellemeztünk. Ennek eredményeként elsőként mutattuk ki, hogy az F18⁺ ETEC törzsek *tet(A)* plazmidjai azonos, IncI1 replikon típusal rendelkeznek, s a tetraciklin rezisztencián kívül egyéb rezisztencia determinánsokat is hordoznak.
2. Megállapítottuk továbbá, hogy a hazai IncI1 replikon típusú F18⁺ ETEC törzs *tet(A)* plazmidján 1-es típusú integron is található, mely a sertés eredetű *E. coli* törzseknél igen szokatlan összetételű, streptotricin-aminoglikozid rezisztenciát meghatározó *estX-aadA1* génkazettákból álló variábilis régiót tartalmaz.

A gentamicin rezisztens, humán és állati eredetű klinikai és kommenzalista *E. coli* törzsek rezisztencia és virulencia genotípusát illetően:

3. Elsőként szolgáltatunk microarray alapú, szisztematikus összehasonlító genotipizálási adatokat emberben és élelmiszertermelő állatokban előforduló klinikai és kommenzalista *E. coli* törzsek antibiotikum rezisztencia és virulencia gén rezervoár szerepéről, és ezen belül egyes rezisztencia és virulencia gének társult előfordulásáról.
4. Egyes aminoglikozid-, és klóramfenikol rezisztencia gének (*ant(2'')*-*Ia*, *aac(6')*-*Ib* és *catB3*) kizárólagosan humán eredetű törzsekben észlelt előfordulása alapján elsőként hívjuk fel a figyelmet arra, hogy ezek a rezisztencia gének a humán *E. coli* törzsekben – az általánosan elterjedt felfogástól eltérően – az állati eredetű törzsektől függetlenül jelenhettek meg.
5. Elsőként mutattunk rá arra is, hogy az állati eredetű kórokozók mellett a kommenzalista *E. coli* törzsek nem csak indikátor szerepet játszanak, hanem bizonyos esetekben élelmiszerbiztonsági kockázatot is képviselhetnek.

A sertés eredetű kommenzalista *E. coli* törzsek, *qnrS1* kinolon rezisztencia plazmidjainak jellemzésére vonatkozóan:

6. A fenti *qnrS1*-pozitív *E. coli* törzsek három olyan MLST klónját írtuk le, melyeket eddig elsősorban humán klónként ismertünk, s előfordulásukról az állati eredetű törzsek között (ST542) vagy a sertés eredetű törzsek között (ST48, ST206) nem volt tudomásunk. Ezen túl, elsőként ismertettük a fenti klónok antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusát.
7. Nemzetközi elsőséggel jellemeztünk *qnrS1* plazmidot sertés eredetű *E. coli* törzsekben, és számoltunk be IncN replikonnal jellemezhető, *qnrS1* gént hordozó *E. coli* plazmidról, háziállatokban, ezzel egyben elsőként jelezve a sertés eredetű *E. coli* törzsek plazmidon közvetített kinolon rezisztenciáját Európában.
8. Megállapítottuk, hogy az itt vizsgált *qnrS1* gén környezete, egy európai csirke eredetű *Salmonella* Infantisból izolált plazmid (pINF5) - ugyancsak Tn3-hoz kapcsolt - kinolon rezisztencia régiójával mutat $\geq 99\%$ homológiát, mely azt jelzi, hogy a *qnrS1* gének *E. coli* és *Salmonella* törzsek közötti átvitelével és ennek közegészségügyi vonzataival komolyan számolnunk kell. Adataink a külföldi adatokkal egybevetve arra utalnak, hogy a sertés és baromfi a *qnrS1* gén rezervoárjai lehetnek.

A doktori kutatás eredményeit tartalmazó közlemények és konferencia anyagok

Közlemények:

1. **Szmolka A.**, Anjum M.F., La Ragione R.M., Kaszanyitzky E.J., Nagy B.: Microarray based comparative genotyping of gentamicin resistant *Escherichia coli* strains from food animals and humans. *Vet. Microbiol.*, (nyomtatás alatt) 2011, doi:10.1016/j.vetmic.2011.09.030.
2. **Szmolka A.**, Fortini D., Villa L., Carattoli A., Anjum M.F., Nagy B.: First Report on IncN Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene *qnrS1* in Porcine *Escherichia coli* in Europe. *Microb. Drug. Resist.*, 17. 567-73, 2011.
3. **Szmolka A.**, Fortini D., Villa L., Carattoli A., Anjum M.F., Nagy B.: Kinolon rezisztencia plazmidok molekuláris epidemiológiai jellemzése sertés eredetű multirezisztens kommenzalista *E. coli* törzsekben. *Magy. Áo. Lapja*, (nyomtatás alatt) 2011.

Konferencia kiadványok:

1. **Szmolka A.**, Fortini D., Villa L., Carattoli A., Anjum M.F., Nagy B.: First report on IncN plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnrS1* in porcine *Escherichia coli* in Europe. 16th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology. Abstract in: *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, 58. 226, 2011.
2. **Szmolka A.**, Anjum M.F., La Ragione R.M., Kaszanyitzky É., Nagy B.: Gentamicin rezisztens állati és humán *Escherichia coli* törzsek antibiotikum rezisztencia és virulencia genotípusa. Akadémiai beszámolók programfüzete, p. 11., 2011.
3. **Szmolka A.**, Anjum M., Woodward M., González-Zorn B., Tóth Á., Adrián E., Kaszanyitzky É., Nagy B.: Microarray-based analysis of antimicrobial resistance genes in gentamicin-resistant *Escherichia coli* of food, human-, and animal origin isolated in Hungary. *MedVetNet 5th Annual Scientific Meeting Abstract Book*, p. 58., 2009.

A doktori kutatás témájához közvetlenül nem kapcsolódó eredmények közlései

Közlemények:

1. Rychlik I., Karasova D., Sebkova A., Volf J., Sisak F., Havlickova H., Kummer V., Imre A., **Szmolka A.**, Nagy B.: Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens. BMC Microbiol., 9. 268, 2009.
2. **Szmolka A.**, Libisch B., Pászti J., Füzi M., Emody L., Nagy B.: Virulence and antimicrobial resistance determinants of human pathogenic and commensal strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Acta Microbiol. Immunol. Hung., 56. 399-402, 2009.
3. Imre A., **Szmolka A.**, Olasz F., Nagy B.: Szerovarspecifikus plazmidok szerepe a *Salmonella*-törzsek virulenciájában. Magy. Áo. Lapja, 129. 428-440, 2007.
4. **Szmolka A.**, Kaszanyitzky E., Nagy B.: Improved diagnostic and real-time PCR in rapid screening for *Salmonella* in the poultry food chain. Acta Vet. Hung., 54. 297-312, 2006.

Konferencia kiadványok:

1. **Szmolka A.**, Cramer N., Wiehlmann L., Nagy B.: Genomic analysis and clonality of Hungarian bovine and human strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Abstract Book, FEMS-Leopoldina-Symposium on Emerging Topics in Microbial Pathogenesis, p.108, 2011.
2. **Szmolka A.**, Imre A., Nagy B.: Colonization, invasion and interleukin induction by the strain *Salmonella* Hadar-18 and its SPI-1 mutants. Abstract CD, Poster Presentations „Microbial pathogens, host susceptibility and response”, 3rd Congress of European Microbiologists FEMS 2009, „Microbes and Man - independence and future challenges”. 2009.
3. **Szmolka A.**, Imre A., Nagy B.: *In vitro* assessment of virulence of invasive *Salmonella* serovars and by some of their mutants. MedVetNet 4th Annual Scientific Meeting Abstract Book, p. 43-44., 2008.

Köszönetnyilvánítás

Köszönet illeti az MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézet vezetőit, munkatársait számos formában megnyilvánuló segítségükért és támogatásukért.

Köszönöm témavezetőmnek, **Nagy Béla** akadémikus úrnak, hogy tudásával, tapasztalatával és biztatásával megteremtette a munkához, majd a dolgozat elkészítéséhez szükséges szellemi és anyagi háttérrel. Köszönet konzulenseimnek **Fekete Péter Zsoltnak**, **Tuboly Tamásnak** hasznos tanácsaikért, és külön köszönöm **Imre Arielnek**, hogy önzetlen segítségére mindig számíthattam.

Köszönöm a témacsoport valamennyi munkatársának, **Puruczki Mártának**, **Sváb Domonkosnak**, **Tóth Istvánnak**, hogy tanácsaikkal és türelemmel segítették dolgozatom elkészültét. Kiemelten köszönöm **Sajtós Erikának** a munka egészéhez nyújtott jelentős technikai segítséget, továbbá **Lestár Barbarának**, aki a *tet(A)* plazmidok vizsgálatában nyújtott jelentős segítséget.

A dolgozat külföldön végzett részmunkáiban **Muna Anjumnak**, **Alessandra Carattolinak** és **Roberto La Ragionenak** tartozom köszönettel, akik lehetőséget adtak arra, hogy laboratóriumukban a munkához szükséges módszertani ismereteket elsajátíthassam. A vizsgált *E. coli* törzseket **Adrián Erzsébetnek**, **Barcsa Mártonnak**, **Füzi Miklósnak**, **Kaszanyitzky Évának** és **Tóth Ákosnak** köszönhetem, míg a plazmid profil vizsgálatokban **Király Margitnak** és **Pásztai Juditnak** szíves együttműködésére és segítségére számíthattam.

Munkáink anyagi fedezetét jelentős részben az EU FP6 NoE (EuroPathoGenomics, Contract No. 512061) valamint az EU FP6 NoE (MedVetNet., WP29, Contract No. 506122) pályázatok jelentették.