

A kutatási terv közérdekű adatainak kivonata beavatkozással járó vizsgálatok¹ számára²

A kitöltött nyomtatvány adatait az etikai véleményt adó Regionális Kutatás-Értékelési Bizottságnak korlátozás nélkül hozzáférhetővé kell tennie bárki számára.

A kutatás-fejlesztési tevékenység során létrejövő szellemi javakat Magyarországon több törvény is védi.³ Ugyanakkor a Helsinkii Nyilatkozat 16. pontja, az Ovideoi Egyezményt hatályba léptető 2002. évi VI. törvény, és az orvosi kutatások végzéséről szóló miniszteri rendelet az emberen végzett orvosi kutatások etikus folytatása érdekében megkövetelik az etikai bizottságoktól, hogy a közvéleményt tájékoztassák az általuk véleményezett kutatások fontosabb adatairól. A közvélemény tájékoztatásának célja: az etikai bizottság munkájának nyilvánossága, a kutatások alanyai alapvető emberi jogainak biztosítása.

A 2007. III. 10-től hatályos 1/2007. (I. 24.) EüM rendelettel módosított 23/2002. (V. 9.) EüM rendelet szerint az alább felsorolt, a kutatási tervben megtalálható adatok közérdekű adatok, amelyeket bárki korlátozás nélkül megismerhet. Kérjük, hogy a szellemi alkotások oltalmának védelmét is szem előtt tartva, a nem nyilvános kutatási terv alapján töltsék ki ezt a táblázatot. A közvélemény és az alanyok tisztességes, lényegre törő tájékoztatását tartsa elsődleges szempontnak. A kutatási terv szakmai-etikai jóváhagyása után, az etikai bizottság a saját honlapján minden érdeklődő számára közzé teheti az itt megadott közérdekű adatokat. **Szakmai vagy szolgálati titoknak minősülő, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot ne közöljön!**

A téma megnevezése (nem kell, hogy megegyezzen a kutatási protokoll címével)

Antibiotikum rezisztens baktériumok evolúciójának rendszerszintű vizsgálata a humán mikrobiom kontextusában

A kérelem iktatási száma:

72/2019-SZTE/M1

A kérelmező neve, munkaköre és beosztása:

Dr. Kintsés Bálint, kutatóbiológus, tudományos munkatárs

1. A kutatás célja, indokoltsága és várható eredményének összefoglalása

¹ A 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 20/B. § g) és h) pontjai szerint:

g.) *beavatkozással járó vizsgálat (interventional trial)*: fizikai beavatkozással járó orvostudományi kutatás és minden olyan beavatkozással járó kutatás, amely a vizsgálati alany lelki egészségére nézve kockázattal jár.

² Ez a nyomtatvány a 23/2002. (V. 9.) számú EüM rendelet 8. § (3) és (4) bekezdéseinek 2008. szeptember 1-jén hatályos szövege alapján készült.

³ A találmányok szabadalmi oltalmáról szóló 1995. évi XXXIII. törvény, a szerzői jogról szóló 1999. évi LXXVI. törvény.

Világszinten jelenleg 700 ezer ember hal meg évente antibiotikum rezisztens fertőzések következtében, közülük több mint 30 ezer Európában. Ha nem történik változás, pesszimista becslések szerint ez a szám 10 millióra emelkedhet 2050-re, a világ vezető halálocai közé emelve az antibiotikum rezisztenciát.

Egyre több tudományos eredmény utal arra, hogy a **humán mikrobióta** (a rajtunk és bennünk élő mikroorganizmusok közössége) és a **kórokozó baktériumok között az antibiotikum rezisztencia gének és virulencia (fertőzőképességért felelős) gének intenzív cseréje zajlik**. Ez a géncsere olyan új generációs superbaktériumok megjelenéséhez vezethet (ezekre már vannak példák is), amelyek nemcsak rezisztensek az antibiotikumokkal szemben, hanem magas fertőzőképességgel is rendelkeznek. Ennek a folyamatnak az evolúciós dinamikája a valós klinikai és közösségi környezetben azonban szinte teljesen ismeretlen.

A gyulladós bélbetegségben, colitis ulcerosa-ban és Crohn betegségben szenvedőknél kimutatták, hogy a bélflóra egy normálistól eltérő, ún. diszbiotikus állapot felé van eltolódva, amelyet csökkent fajdiverzitás és bizonyos patogén *Escherichia* és *Klebsiella* fajok túlburjánzása jellemez. Kimutatták ugyanakkor azt is, hogy ebben a diszbiotikus állapotban megnő a horizontális géncsere gyakorisága is különböző fajok között.

Crohn-betegeknél konkrétan ok-okozati összefüggést találtak egy bizonyos típusú kórokozó *Escherichia coli*-nak a megtelepedése és túlburjánzása és a felerősödött gyulladós válasz között a vékonybél csípőbél szakaszában. A széles spektrumú antibiotikumok használata helyett, amelyek a bélflóra védelmet nyújtó tagjait is kipusztítják és csak súlyosbítják a diszbiotikus állapotot, szűk specificitású antimikrobiális szereknek az alkalmazása tűnik ígéretesnek, amelyek célzottan csak az adott káros baktériumot pusztítják el. Ez egy alternatívát jelenthet az IBDs betegek kezelésében, de fontos feltérképezni, hogy milyen rezisztencia gének terjedhetnek horizontálisan ezek ellen a szűk specificitású antimikrobiális szerek ellen.

Jelen kutatás célja a többszörösen ellenálló (multidrog rezisztens) humán bélflóra és a kórokozó baktériumok közötti géncserehálózat - antibiotikum rezisztencia- és virulencia gének hálózatának - feltérképezése. Ezt mind egészséges emberek esetében, mind gyulladós bélbetegségben szenvedőknél szeretnénk feltérképezni. Ehhez, **nagy áteresztőképességű kísérletes és bioinformatikai módszereket fejlesztünk.** Továbbá, a

technológia felhasználásával az alábbi égető biológiai kérdéseket szeretnénk megválaszolni.

- Mely rezisztencia és virulencia gének járulnak hozzá a kórokozó baktériumok multidrog rezisztenssé válásához, illetve a multidrog rezisztens humán bélflóratagok virulenciájának a növekedéséhez a bélflóra és a kórokozó baktériumok közötti géncseréknek köszönhetően?
- Megjósolható-e előre adott gének átadása egy olyan komplex környezetben, mint az emberi bél mikrobiom?
- Hogyan befolyásolja a géncsere folyamatát a béltraktus gyulladása?

Reményeink szerint, az eredményeink nagymértékben hozzájárulnak annak megértéséhez, hogy a humán tápcsatornában lezajló géncserefolyamatok hogyan járulnak hozzá az antibiotikumokkal szemben rezisztens, nehezen kezelhető bakteriális fertőzések kialakulásához. Ugyanakkor, a folyamat megértése mellett az eredményeink olyan hatékonyabb antibiotikum kezelési protokollok kidolgozását is elő fogják mozdítani, amelyek esszenciálisak a superbaktériumokkal való küzdelemben.

2. A kutatás tudományos megalapozottságát, indokoltságát megalapozó irodalmi hivatkozások megjelölése (elegendő a kutatás irányát jelző néhány irodalmi hivatkozás)

Gilbert, Jack A, Martin J Blaser, J Grégory Caporaso, Janet K Jansson, Susan V Lynch, and Rob Knight. 2018. "Current Understanding of the Human Microbiome." *Nature Medicine* 24 (4). Nature Publishing Group: 392–400.

Lerminiaux, Nicole A., and Andrew D.S. Cameron. 2019. "Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Genes in Clinical Environments." *Canadian Journal of Microbiology* 65 (1): 34–44.

Pendleton, Jack N, Sean P Gorman, and Brendan F Gilmore. 2013. "Clinical Relevance of the ESKAPE Pathogens." *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 11 (3): 297–308. doi:10.1586/eri.13.12

Wyres, Kelly L, and Kathryn E Holt. 2018. "Klebsiella Pneumoniae as a Key Trafficker of Drug Resistance Genes from Environmental to Clinically Important Bacteria." *Current Opinion in Microbiology* 45 (October). Elsevier Current Trends: 131–39.

Wyres, Kelly L, Ryan R Wick, Louise M Judd, Roni Froumine, Alex Tokolyi, Claire L Gorrie, Margaret M C Lam, Sebastian Duchene, Adam Jenney, and Kathryn E Holt. 2018. "Distinct Evolutionary Dynamics of Horizontal Gene Transfer in Drug Resistant and Virulent Clones of Klebsiella Pneumoniae." *BioRxiv*, September. Cold Spring Harbor Laboratory, 414235.

Beceiro, Alejandro, María Tomás, and Germán Bou. 2013. "Antimicrobial Resistance and Virulence: A Successful or Deleterious Association in the Bacterial World?" *Clinical Microbiology Reviews* 26 (2). American Society for Microbiology

(ASM): 185–230.

Lam, Margaret MC, Kelly L Wyres, Ryan R Wick, Louise M Judd, Aasmund Fostervold, Kathryn E Holt, and Iren H Lohr.

2018. "Convergence of Virulence and Multidrug Resistance in a Single Plasmid Vector in Multidrug-Resistant *Klebsiella*

Pneumoniae ST15." *BioRxiv*, November. Cold Spring Harbor Laboratory, 463406.

Gu, Danxia, Ning Dong, Zhiwei Zheng, Di Lin, Man Huang, Lihua Wang, Edward Wai-Chi Chan, et al. 2018. "A Fatal Outbreak of ST11 Carbapenem-Resistant Hypervirulent *Klebsiella Pneumoniae* in a Chinese Hospital: A Molecular Epidemiological Study." *The Lancet. Infectious Diseases* 18 (1). Elsevier: 37–46.

Stecher, Bärbel, Rémy Denzler, Lisa Maier, Florian Bernet, Mandy J Sanders, Derek J Pickard, Manja Barthel, et al. 2012. "Gut Inflammation Can Boost Horizontal Gene Transfer between Pathogenic and Commensal Enterobacteriaceae." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109 (4). National Academy of Sciences: 1269–74.

3. A résztvevők toborzásának, beválasztásának, kizárásának rendszere

Betegbevonás: A vizsgálatba két csoportot vonunk be. Egyrészt, 18 évnél idősebb, egészséges embereket, toborzás útján, illetve a Szegedi Tudományegyetem I. sz. Belgyógyászati Klinikán gondozott, enyhe vagy mérsékelten aktív, illetve inaktív, colitis ulcerosás vagy Crohn betegeket. A vizsgálatban való részvétel önkéntes, írásos beleegyező nyilatkozat aláírásához kötött.

Bevonási kritériumok: Egészséges embereknél feltétel bármilyen antibiotikumkezelés hiánya a székletminta adást megelőző egy évben. Ez fontos a bélflóra diverzitásának biztosítására. A betegcsoportba való bevonás feltételei: legalább 3 hónapja igazolt colitis ulcerosa vagy Crohn betegség, legalább 2 hónapja stabil dózisú aminoszalicilát-, és/vagy kortikoszteroid- és/vagy immunomodulátor- és/vagy biológiai kezelés mellett fennálló aktivitás valamint olyan betegek bevonása, akiknek a betegsége inaktív fázisban van. A vizsgálatba bevont betegeket az I. sz. Belgyógyászati Klinikán gondozottak közül választjuk be.

Kizárási kritériumok:

18 évnél fiatalabb életkor, radiológiai vizsgálattal vagy klinikailag gyanítható vékonybél-striktúra, súlyos aktivitás, felső gasztrointesztinális vérzés, ileus, subileus, panaszokat okozó diverticulosis, vastagbél tumor, terhesség, súlyos anaemia, neutropenia, opportunista fertőzés, 3 hónapon belül végzett hasi műtét, graft versus host betegség, Továbbá amennyiben a beteg a vizsgálat közben visszavonja önkéntes hozzájárulását. A széklet donáció a SZTE I. sz. Belgyógyászati Klinikán, a kutatásban részt vevő orvosok,

Dr. Rutka Mariann, Ph.D és Prof. Molnár Tamás, D.Sc. felügyeletével fog történni.

4. A kutatásba bevonni kívánt résztvevők száma (összesen és kutatóhelyenként), neme, életkora

A kutatásba bevonni kívánt résztvevők száma összesen 35-40 (közülük az egészségesek száma 15), a nő/férfi arány megközelítőleg 50-50%. A résztvevőket életkor szerint nem csoportosítjuk.

5. A kutatás módszerei

A bevonási kritériumoknak megfelelő betegektől és egészséges önkéntesektől egyszeri alkalommal székletmintát kérünk bélmikrobiota összetétel meghatározása és metagenomikai könyvtár építése céljából. A széklet donáció a SZTE I. sz. Belgyógyászati Klinikán, a kutatásban részt vevő orvosok, Dr. Rutka Mariann, Ph.D és Prof. Molnár Tamás, D.Sc. felügyeletével fog történni. A mintákat feldolgozásig fagyasztva tároljuk.

- **Plazmid könyvtár építése antibiotikum rezisztencia gének azonosítására**

A funkcionális metagenomikai plazmid könyvtár építéséhez 10 mikrogram (μg) pucolt DNS mintára van szükségünk. A székletből történő DNS izoláláshoz ≤ 500 mg széklet szükséges résztvevőnként, melyet a fagyasztott székletmintákból nyerünk. A székletmintából a DNS kinyerése a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában fog történni a célra kialakított molekuláris biológiai laboratóriumban. A laboratórium rendelkezik a szükséges működési engedéllyel a humán széklet, és abból kinyert bakteriális DNS kezeléséhez is (Kiállító hatóság: Földművelődési Minisztérium, Engedély száma: TMF_146-9_2017).

- **Bélmikrobiota összetételének meghatározása**

A bélmikrobiota összetételének meghatározása metagenomikai analízissel, a bakteriális 16S rRNS génben található V4 hypervariábilis régió szekvenálásával, a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában fog történni. A székletből történő DNS izoláláshoz ≤ 150 mg széklet szükséges résztvevőnként, melyet a fagyasztott székletmintákból nyerünk.

6. A kedvezőtlen események és a súlyos nemkívánatos események lehetősége, a bekövetkezésük esetén a követendő eljárások

A vizsgálatban való részvétel során nem kívánatos események fellépésére nem számítunk, mivel a résztvevőktől kizárólag széketminta gyűjtés fog történni egyszeri alkalommal.

7. A résztvevők személyes és egészségügyi adatainak kezelésével kapcsolatos intézkedések (az 1992. évi LXIII. törvény alapján)

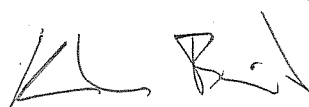
A vizsgálatba bevont személyek adatai anonim módon kerülnek elemzésre. Az adatok tárolása a Magyar Tudományos Akadémia Szegedi Biológiai Kutatóközpontjában, illetve a Szegedi Tudományegyetem I.sz. Belgyógyászati Klinikán fog történni. A vizsgálat adatait a kutatásra vonatkozó etikai szabályoknak és az orvosi titoktartásnak megfelelően titokban tartjuk, azokat másnak ki nem adjuk.

8. A kutatás során nyert adatok statisztikai feldolgozásának módszere

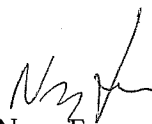
A vizsgálat során nyert adatokat Dr. Ari Eszter bioinformatikus bevonásával dolgozzuk fel.

Nyilatkozom, hogy a fenti adatok nem sértik a kutatásnak a szellemi alkotások védelmére vonatkozó érdekeit és nem tartalmaznak szakmai- vagy szolgálati titkot, illetve a kutatás érdekeit veszélyeztető adatot. A fenti adatokat bárki, korlátozás nélkül megismerheti. Tudomásul veszem, hogy jóváhagyás után az RKEB a közérdekű adatokat a honlapján közzé teheti.

Szeged, 2019. július 17



Dr. Kintses Bálint
kérelmező neve és aláírása



Dr. Nagy Ferenc
intézetvezető neve és aláírása