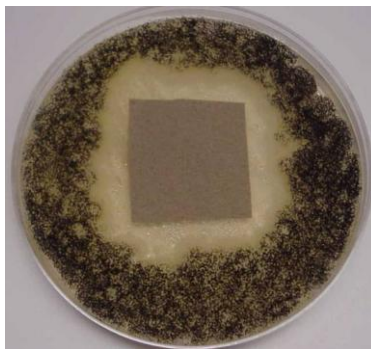


Küzdelem a mikrobák ellen Általános technológiák – miért nem használhatók tovább?

Mára számos helyen fontossá vált a steril, mikrobamentes környezet biztosítása, melyet különböző antimikrobiális technológiákkal, hatóanyagokkal próbálunk elérni. Ezek az anyagok képesek megszüntetni, vagy csökkenteni a mikroorganizmusok szaporodását, így általános megoldásként ilyen anyagokkal kezelik a különböző felszíneket, textileket. Ezek a kémiai anyagok diffundálnak a környezetbe, ahol a mikrobák felveszik őket és ezáltal elpusztulnak.

A mikrobák ellen leggyakrabban használt hatóanyagokra jellemző:

- A hatóanyag kikerül a környezetbe
- Kémiai roncsolják a sejteket
- Vízzel, nedvességgel érintkezve kimosódhatnak, a környezetbe kikerülhetnek
- A hatóanyagot a sejtek felveszik, így az idővel elfogy és elveszti funkcióképességét
- Rezisztencia alakulhat ki ellenük



Diffundáló anyagoktól gátolt zóna agargélen.

Ez egy igen egyszerű, azonban elég káros és rossz hatásfokú technológia.

A problémák a következők:

1, **Káros**

A hatóanyag a következőket tartalmazhatja:

- **Triklozán:** szintetikus szer, baktérium és gombaölő tulajdonságokkal. Probléma vele, hogy allergiát okozhat, valamint megtámadja a bőr természetes savvédőköpenyét, és károsíthatja a májat is. Előállításánál szintén mérgező anyagok keletkezhetnek, például dioxinok, furánok. Széles körben való alkalmazása bizonyíthatóan ellenálló csírák kialakulásához vezet – rendszeres használatával tehát pont az ellenkezőjét érjük el, mint amit akartunk! Biológiai nehezen bomlik le, mérgező az élővizek, halak számára is.
- **Szerves-ön vegyületek (TBT vegyületek):** súlyosan terhelik a környezetet, emellett az emberi szervezetbe jutva károsítják az immunrendszert, valamint az idegrendszert.
- **Nehézfémek organikus komplexei:** a fém anyagi minőségétől függően különböző károsodásokat okoznak, például szervi elváltozásokat, agyfunkciók zavarát. A környezetbe kikerült nehézfémek szintén hozzájárulnak az antibiotikum rezisztens baktériumtörzsek kialakulásához.
- **Ezüst:** nincs káros hatása, de bizonyos mikrobákban rezisztencia alakulhat ki ellene.

Mivel a hatóanyag elhagyja a textilek felszínét, a mérgező kémiai anyagok is könnyen kijuthatnak. Ez pedig súlyosan károsíthatja a környezetet, valamint az emberre is veszélyt jelenthet!

2, **Rossz hatásfokú**

Mivel a sejtek a hatóanyagot felveszik, az idővel elfogy. Így előbb csak csökken a hatékonyság, majd később teljesen meg is szűnik.

3, **Rezisztencia kialakulása**

Ez az általános technológiák talán legnagyobb hátránya. Ahogy a hatóanyag diffundál a felületről, kialakul egy zóna, amin belül a mikrobákra nézve halálos dózisban van jelen a

méreg. Itt a mikroorganizmusok elpusztulnak. A hatóanyag azonban ennél távolabbra is eljut, kisebb koncentrációban – itt már nem pusztítja el a mikrobákat, tehát azok a halálosnál kisebb dózissal kerülnek kapcsolatba. Ennek következtében az ebben a zónában található mikrobákból a hatóanyagra rezisztens törzsek alakulnak ki.



Rezisztens baktériumtörzsek kialakulása.

Az antimikrobiális anyagokra rezisztens baktériumtörzsek kialakulása igen súlyos problémákat okoz az egész világon.

2008. június 9-10-én az EPSCO (Employment, Social Policy, Health and Consumer Affairs Council; Foglalkoztatási, Szociálpolitikai, Egészségügyi és Fogyasztóvédelmi Tanács) tanácsülésén a következőket állapították meg:

„Az antimikrobiális rezisztencia (AMR) olyan, növekvő európai és globális egészségügyi probléma, amely a fertőző betegségek révén növeli a morbiditást és a halandóságot, továbbá az életminőség romlásához, valamint az egészségügyi és gyógyászati költségek növekedéséhez vezet.”⁽¹⁾

Az Európai Élelmiszerbiztonsági Hivatal szintén napirendre tűzte a kérdést. 2008. május 9.-én nyílt konzultációt tartott "Élelmiszer eredetű antimikrobiális -rezisztencia, mint biológiai veszély" címmel. Itt hasonló megállapítások születtek:

„...Az antimikrobiális rezisztenciával rendelkező baktériumok közegészségügyi szempontból aggályosak, hiszen emelkedő számban okoznak megbetegedéseket, halálozásokat...”

Antibiotikum rezisztencia az itt leírtakon kívül még más módokon is kialakulhat, erről illetve ennek következményeiről bővebben az Antibiotikum rezisztenciáról című menüpontban olvashat.

Látható tehát, hogy a hagyományosan használt technológiák egyszerűek ugyan, de számos negatív hatásuk van. Más megoldások után kell tehát néznünk.

Az AEGIS MicrobeShield technológia: A mikrobák elpusztítása fizikai úton történik

Az AEGIS technológia a világ egyik legsikeresebb antimikrobiális technológiája, mely fizikai úton pusztítja el a mikrobákat. Az Amerikában közel 25 éve felfedezett, de Európában mind a mai napig kevésbé ismert technológia hatékony antimikrobiális védelmet fejt ki anélkül, hogy a hagyományos technológiák káros tulajdonságaival rendelkezne.

Az AEGIS technológia jellemzői:

- A hatóanyag a felszínhez kötött, aktiválódásához nem szükséges diffundálnia a környezetbe
- Mechanikailag roncsolja a sejteket
- A hatóanyag nem kerül ki a környezetbe, nem károsítja azt
- A mikroorganizmusok sejtjei nem veszik fel a hatóanyagot, így a technológia tartós
- Nem alakulhatnak ki rezisztens törzsek a hatóanyag ellen

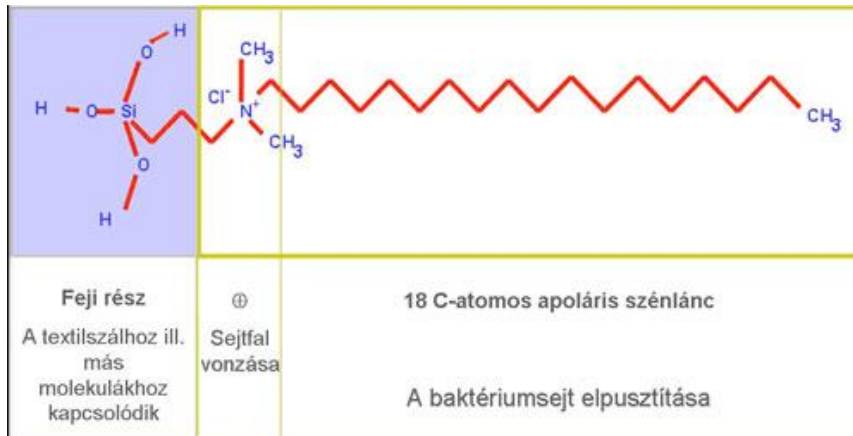
Az AEGIS antibakteriális védelem nem tartalmaz triklozánt, szerves-ón vegyületeket, nehézfém-komplexeket, ezüstöt, valamint semmilyen egyéb, a környezetbe diffundáló

kémiai hatóanyagot. Ezért az AEGIS technológia teljesen biztonságos a környezetre és az emberre nézve egyaránt.

Mitől ilyen megbízható az AEGIS technológia?

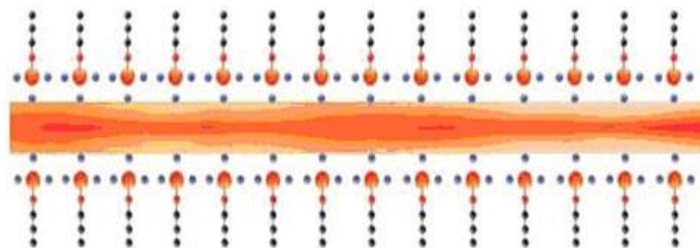
A hatóanyag

A hatóanyagot óriásmolekulák alkotják, melyek egy feji részből, egy pozitív töltésű atomcsoportból, valamint egy hosszú apoláris láncból állnak. Ez az óriásmolekula a 3-trihidroxi-szilil-propil-dimetiloktadecil-ammoniumklorid.



A 3-trihidroxi-szilil-propil-dimetiloktadecil-ammoniumklorid.

A hatóanyag molekulák az AEGIS technológiával kezelt felszíneken, például a textilszálakon polimerizálódnak, szorosan egymáshoz és a felszínhez kapcsolódnak. Ezáltal egy vékony, 1 molekulavastaságú réteget hoznak létre, mely a felületről semmilyen módon nem távolítható el.



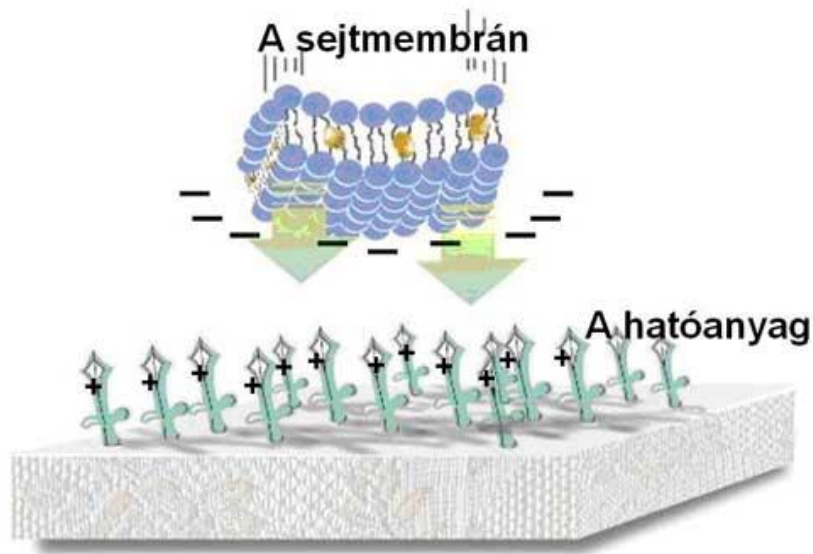
Polimerizálódott hatóanyag molekulák.

A mikrobák elpusztítása

A mikrobák elpusztítása mechanikai úton történik és két szakaszra bontható.

1, A mikrobák megkötése

A mikroorganizmusok sejtmembránja negatív töltésű, ezt használja ki a technológia. A hatóanyag pozitív töltésű molekularésze elektrosztatikusan magához vonzza a mikrobák negatív töltésű membránját. Ezáltal a mikrobák „csapdába esnek”.

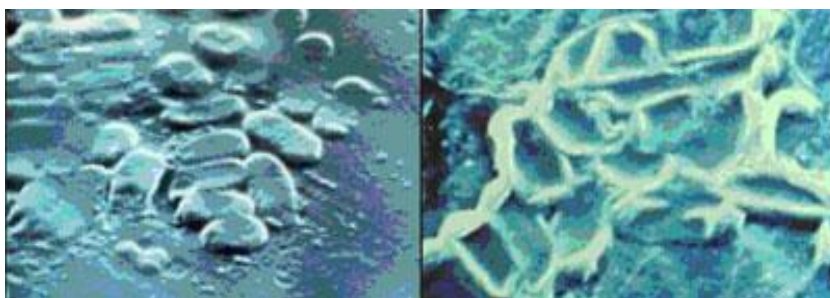


A mikrobák vonzása.

2, A mikrobák elpusztítása
Két lépésben történik.

- A hatóanyag hosszú apoláris oldallánca belemerül a mikroba plazmamembránjába és ezáltal rögzíti a sejtet. A sejtek - így a mikrobák membránja is, azonban működése során állandó mozgásban van, így ez a rögzítés végzetes a sejtre nézve. A további mozgás során a sejt önmagát szakítja szét.
- Mindezek mellett az energiaháztartásban fontos szerepet játszó töltések is a membránban mozognak. Ezeket a bemerülő oldallánc elvezeti a sejtről, így okozva biztos pusztulást.

Ezen mechanizmusoknak köszönhetően a mikrobák elpusztítása teljes egészében mechanikai úton történik; mivel a technológia a mikrobák - évmilliók alatt kialakult - fizikai felépítésének gyengeségeit használja ki. Ezért szemben a vegyszeres sejtroncsolási módszerekkel, ennél a technológiánál a baktérium-rezisztencia kialakulása elképzelhetetlen.



A mikrobák pusztulása.

Összefoglalás: az AEGIS antimikrobiális védelem jellemzői

- **Aktív frissesség:**
Megakadályozza a kellemetlen szagokat és foltokat okozó mikrobák megtelepedését, növekedését.
- **Aktív higiénia:**
Gátolja az allergiát okozó poratkák szaporodását, mert elpusztítja a táplálkozásukban fontos gombafajokat (*Aspergillus repens*). Ezáltal a poratkák életfeltételei megszűnnek.
A bőrbetegségeket, nosocomiális fertőzéseket, ételmérgezéseket okozó mikrobákat szintén elpusztítja, így sok probléma, betegség megelőzhetővé válik.
- **Aktív védelem:**

A mikrobák elpusztítása mechanikai úton történik, ezáltal nem alakulhatnak ki rezisztens törzsek.

- **Biztonság:**
A technológia nem használ fel triklózánt, szerves-ón vegyületeket, nehézfém-komplexeket, ezüstöt. Teljesen biztonságos az emberre és a környezetre nézve is.
- **Nem diffundál:**
A hatóanyag nem kerül ki a környezetbe, vagy a bőrre.

A széleskörűen alkalmazott megoldások



Jelenleg Magyarországon, azokon a helyeken, ahol a sterilitás leginkább meghatározó szempont (kórházak, laboratóriumok, gyógyszergyárak) a kritikus helyek bejáratainál szinte kivétel nélkül többretegű, eldobható ragacsos lábtörlőt alkalmaznak. Ez ugyan látványosan leszedi a port, a mikrobiális szennyezettség ellen nem véd elég hatékonyan.

Miért nem megoldás a ragacsos szőnyeg?

1., A mikrobiális szennyezettség nem azonos a makroszkópos szennyezettséggel. Hiába látszik szabad szemmel egy felület tisztának, ettől függetlenül az még tele lehet – és általában van is – mikrobákkal. Így van ez a cipőtálpakkal is – ha leszedjük róla a port, a baktériumok még ott maradnak.

2., A cipőtálpak felépítése.



Látható, hogy hiába ragad a szőnyeg, mivel nincsenek sörtéi, nem tudja a cipőtálpak réseiből kiszedni a koszt. Így a bekerülő rengeteg kórokozó mellett még sár is kerülhet be abba a helységbe amit sterilen kívánunk tartani!

3., Kémiai hatóanyagokat tartalmaz. A kémiai hatóanyag pedig diffundál a felszínről, kikerül a környezetbe, problémák sorozatát indítva el – gondoljunk csak az antibiotikum rezisztenciára.

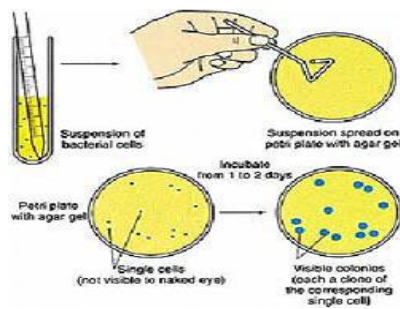
A mikrobák kimutathatósága

Miért nem lehet soha teljesen steril egy felszín?

Bármilyen antimikrobiális hatóanyagot használhatunk, egy felszín sose lehet teljesen steril. Ne várjuk tehát azt, hogy egy vattatampont végighúzva még egy antimikrobiális védelemmel ellátott felszínen is, nem tudunk kitenyészteni róla semmilyen baktériumot. Miért van ez?

1., A hatóanyagok hatásának kifejtéséhez idő kell, mikrobák viszont folyamatosan érkeznek a felszínre. Így nem lehet olyan időpontot találni, mikor egy antimikrobiális felületen a hatóanyag már az összes mikroorganizmust elpusztította, de még nem került rá újabb sejt.

2., Mikroba aggregátumok alakulhatnak ki.



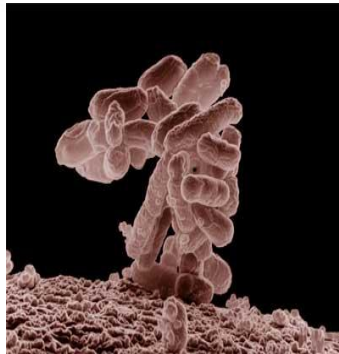
Egyes sejtek egymásra halmozódnak, így az antimikrobiális felülettel nem határos baktériumokra nem hat a hatóanyag, csak később, mikor érintkezésbe kerülnek a felszínnel. Emellett a hatékonyságot a már elpusztított mikrobák is gátolhatják – ezért fontos a megfelelő tisztítás.

kezeléssel ellátott felület összehasonlításnál egy ml steril fiziológiás A csíraszám becslés alapja, tízszeres lépésekben hígítási párhuzamosban táptalajra körülmények között a tömény hígítási tagok esetén híg tagok esetén pedig nem minta csíraszámától függ,

számolható a minta. Egy baktériumtelep kifejlődéséhez elvileg elég lenne egy sejt is, de ez a valóságban nem feltétlenül van így. Mivel a telepképzéshez szükséges sejtek számát nem tudjuk, az ún. telepképző egység (TKE) terminust alkalmazzuk.

A ragacsos szőnyeg és a Microguard hatékonyságának összehasonlítása

Staphylococcus aureus baktériumtörzs egy kacnyi friss tenyészetéből 99 ml steril fiziológiás sóoldatban szuszpenziót készítettünk. Ezt tekintettük a továbbiakban „tömény” mintának (hígítás: 1). Ezt a sejt szuszpenziót tovább hígítottuk, 1 ml-t vittünk tovább 99 ml-be (10^{-2} hígítás). Ebből további háromtagú 1:10 arányú hígítási sort készítettünk (1 ml továbbvitele 9 ml-be), így 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} hígítású tagokat kaptunk. A csíraszám meghatározása érdekében ezekből három párhuzamosban 100-100 μ l-t (0,1 ml) Petri-csészében lévő táptalajra szélesztettünk, így ezek hígítása sorrenden 10^{-3} , 10^{-4} 10^{-5} volt. Ezt egy hétig 28°C -on inkubáltuk.



Mit lehet akkor kimutatni?

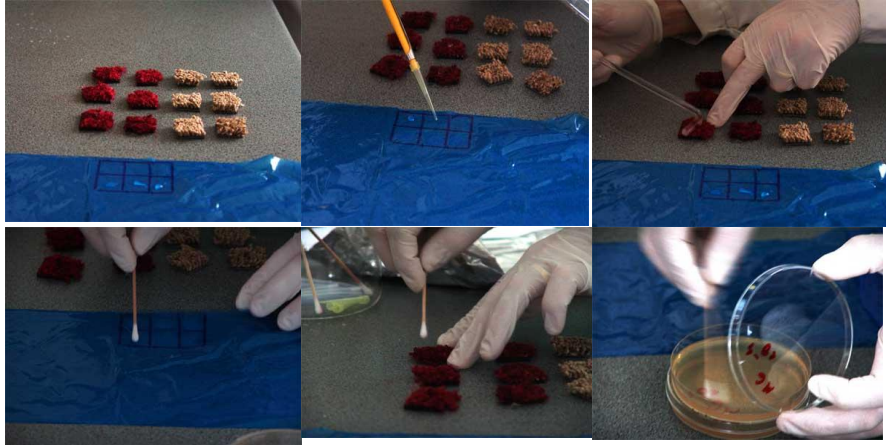
Két eltérő antimikrobiális közötti különbség kimutatható. Az baktériumtörzs tenyészetéből 99 sóoldatban szuszpenziót készítettünk, hogy a sejt szuszpenzióból sort készítettünk, ennek tagjait több szélesztjük, és megfelelő telepek kifejlődéséig inkubáljuk. A a telepek összenőnek, a nagyon kapunk növekedést. Az eredeti hogy melyik tag esetében lesz



A baktérium tenyészet és a hígítási sor.

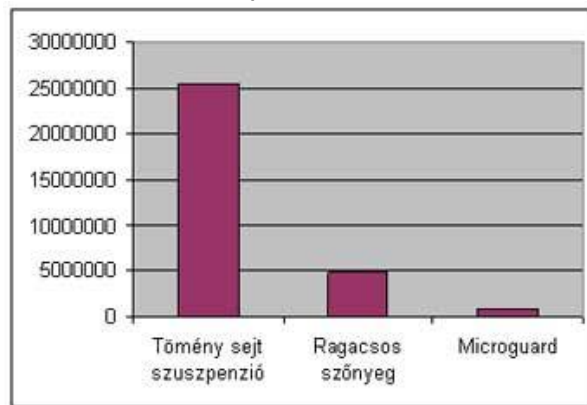
A felületek inaktiváló hatását a következőképpen teszteltük:

A hígítási sor két tagjából (10^{-3} , 10^{-4}) a két felület 2×2 cm-es területére steril körülmények között 50-50 μ l-t pipettáztunk, steril szélesztő bottal a felületre/be szétkentük. 15 perc szobahőmérsékletű inkubációt követően a teljes 2×2 cm-es felületet steril vattatamponnal mintáztuk. A vattatampon teljes felületével táptalajokat kontamináltunk. Ezeket egy hétig 28°C -on inkubáltuk.



A hatás összehasonlíthatósága érdekében valamennyi kapott csíraszámot visszaszámoltuk az eredeti, tömény sejt szuszpenzió hígítására, így az a két felület nem csak egymással vethető össze, hanem a hatékonyságuk is tesztelhető, tehát hogy az eredetileg rájuk oltott baktériumok hány százalékát NEM sikerült visszaizolálni róluk. Ez az érték a Ragacsos szőnyegnél 81,05%, a Microguard-nál 96,05% volt.

A két felületről visszaizolált baktériumok sejtszáma alapján statisztikai elemzést (t-próba) is végeztünk, ez alapján kijelenthető, hogy a két anyag közül a Microguard statisztikailag is kimutathatóan eredményesebb.

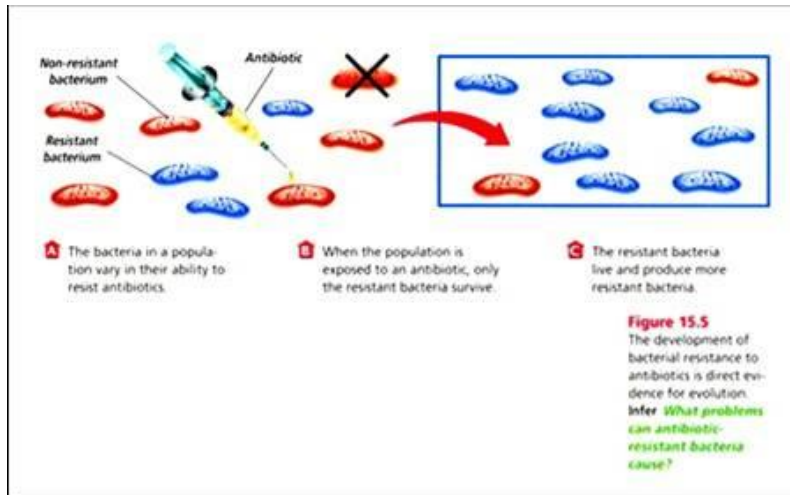


A rezisztencia kialakulása

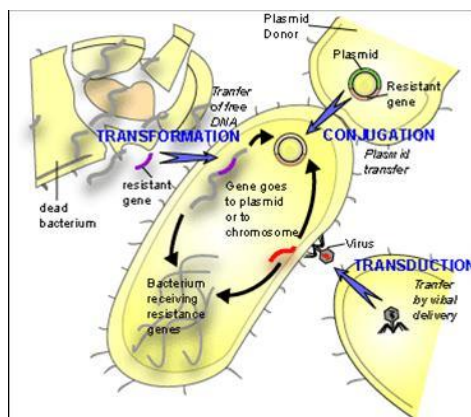
A mikrobák ellen alkalmazott hagyományos kémiai anyagok, más néven antibiotikumok használata rezisztens törzsek kialakulásához vezet. A rezisztencia kialakulásáról írtunk az általános technológiáknál is, létrejöttében azonban más mechanizmusok is szerepet játszanak.

Hogyan tesznek szert rezisztenciára a baktériumok?

1., *Mutáció, szelekció:*



A baktériumok genomjában gyakoriak a mutációk, így nagyon sok változat alakul ki köztük. Mikor egy baktérium közösség kémiai anyagokkal érintkezik, mutációval könnyen kialakulhat egy olyan forma, ami ellenálló az adott antibiotikumra. Ez a típus könnyen elterjed és az utódpopuláció ellen már hiába használjuk az addig bevált kemikáliákat, semmi hatása nem lesz. A rezisztencia egyrészt az adott ellenálló sejt saját szaporodásával, másrészt az alább felsorolt aszexuális génkicserélődési módokon terjed.



2.,. Transzformáció:

Ennek során egy donor baktérium DNS darabot ad át egy másik baktériumnak. Ez a DNS tartalmazhatja a rezisztencia génjét, így az azt felvevő baktériumsejt is rezisztens lesz.

3.,. Konjugáció:

Ekkor két sejt összetapad és az egyikből gének kerülnek át a másikba. Tehát könnyen átkerülhetnek a rezisztenciáért felelős gének is.

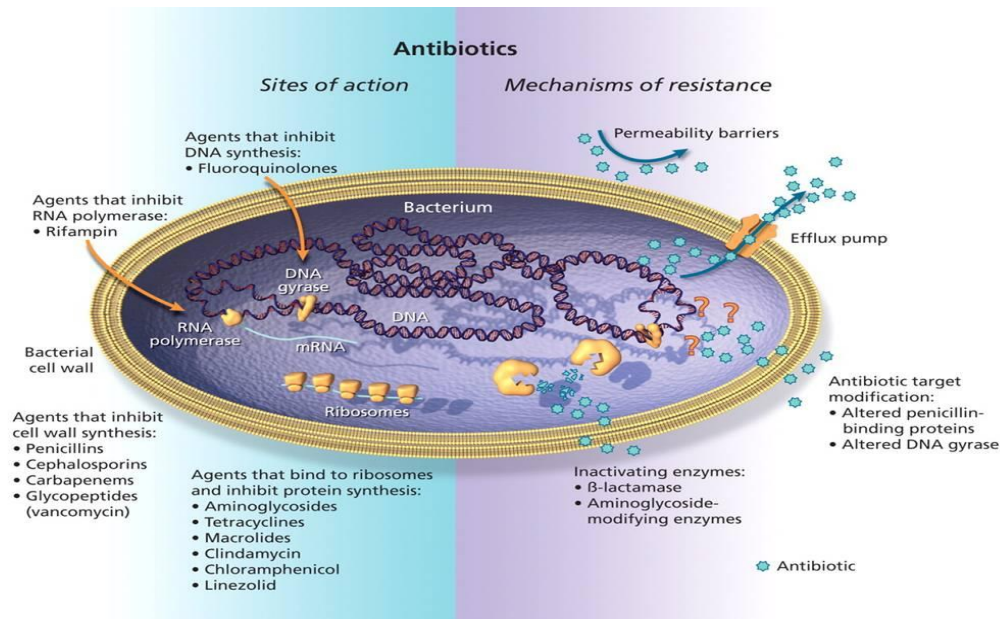
3.,. Transzdukción:

Bakteriofágok (baktériumokat fertőző vírusok) juttatnak át géneket egyik baktériumsejtből a

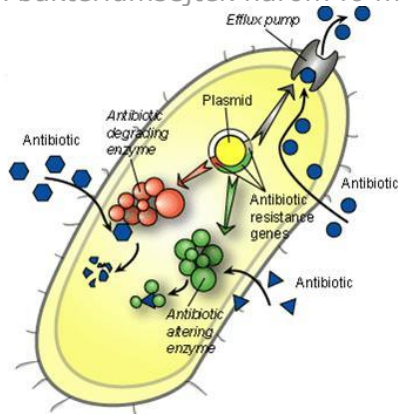
másikba.

A különböző kemikáliák jelenléte stresszt jelent a baktériumok számára. Ennek következtében nő a rezisztencia kialakulásának valószínűsége is – SOS válasz. Ugrásszerűen nő a mutációs ráta, illetve a nő a DNS darabok (plazmidok) felvételének képessége is. → A vegyszerek használatával és környezetbe való kibocsájtásával tehát csak tovább növeljük a rezisztens törzsek kialakulásának esélyét.

Mit is jelent az antibiotikum rezisztencia?



A baktériumsejtek három fő módon védekeznek az antibiotikumok ellen.



1., *Módosító enzimek:* A sejtbe bekerült antibiotikum molekulákhoz enzimek kapcsolódnak és módosítják azt. A továbbiakban így az antibiotikum már nem tudja kifejteni a hatását.

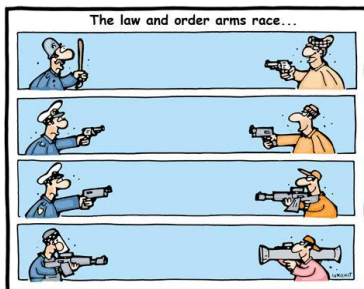
2., *Inaktiváló enzimek:* A felvett kemikáliák molekuláit enzimek lebontják, ezáltal azok inaktívvá válnak.

3., *Pumpák:* A baktériumot megtámadó vegyi anyagok molekuláit a sejt a membránjába ágyazott pumpák segítségével kilöki magából. Így megszabadul a számára veszélyes anyagoktól.

A rezisztens törzsek megjelenése

Három elmélet magyarázza a rezisztens törzsek megjelenését és terjedését. Valószínűleg mindhárom mechanizmus fontos a rezisztencia kialakulásában.

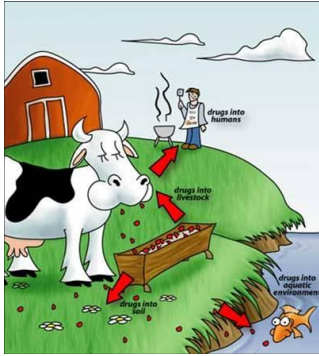
1., *Fegyverkezési verseny:*



A versengő felek az evolúció során adaptációk és ellenadaptációk sorozataként fejlesztenek ki olyan jegyeket, amelyek segítik őket a túlélésben. Például a prédaállatok azonos génei, melyek nagyobb esélyt adtak a túlélésre és szaporodásra, sikeresebben terjedtek el társaiknál, ugyanígy váltak gyakoribbá a sikeresebb zsákmányszerzést biztosító gének a ragadozók esetében.

Így hiába fejlesztünk ki egyre újabb kémiai anyagokat a mikrobák ellen, azok mindig képesek lesznek ehhez alkalmazkodni.

2., *Antibiotikum szennyezés:*



Rengeteg antibiotikumot és vegyszert használunk, melyek kikerülnek a környezetbe. A mikrobák érintkeznek ezekkel, ami nagyban elősegíti a rezisztens törzsek kialakulását a talajban és a vizekben is.

3,. Evolúciós melléktermék:

Az elmélet szerint a stressz hatásokhoz történő adaptációk egyik mellékterméke az antibiotikum rezisztencia kialakulása. A kémiai anyagokat inaktiváló mechanizmusok eredetileg nehézfémek elleni védekezésben vettek részt. Ez különösen veszélyes, hiszen ma is rengeteg nehézfémet juttatunk ki a környezetünkbe, elősegítve ezzel a rezisztencia kialakulását és terjedését.

Hol alakulnak ki rezisztens törzsek:

Eddigi tudásunk szerint főleg kórházakban, egészségügyi intézményekben – olyan egyéb helyeken jelentek meg rezisztenciával rendelkező törzsek, ahol nagymértékben használtak antibiotikumokat, vegyszereket. Ez a kép azonban mára megváltozott. A szabadban élő baktériumok nagymértékű stressz hatásoknak vannak kitéve a talajban és a vizekben. Az egyik legjelentősebb ilyen hatás a nehézfémek jelenléte. Az ehhez való adaptáció (alkalmazkodás) során számos speciális biokémiai mechanizmust fejlesztenek ki. Mindez horizontális (aszexuális) génkicserélődés révén hamar szétterjed a különböző törzsek és fajok között. Mindezek a mechanizmusok egyben antibiotikum rezisztenciát is jelentenek. Ily módon akár antibiotikummal soha korábban nem találkozó baktériumok is lehetnek antibiotikum rezisztensek. Ezt számos, a talajmikrobákra irányuló kutatás is bizonyította!

Mit értünk el eddig diffundáló antimikrobiális anyagok használatával?

Olyan szuperkórokozók jöttek létre, amelyek többféle antibiotikumra rezisztensek és hagyományos módokon már nem lehet ellenük védekezni. Egy-egy antibiotikumra rendkívül gyorsan, körülbelül tíz éven belül megérkezik a „válasz”.

EVOLUTION OF RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND HERBICIDES		
Antibiotic or herbicide	Year deployed	Resistance observed
<i>Antibiotics</i>		
Sulfonamides	1930s	1940s
Penicillin	1943	1946
Streptomycin	1943	1959
Chloramphenicol	1947	1959
Tetracycline	1948	1953
Erythromycin	1952	1988
Vancomycin	1956	1988
Methicillin	1960	1961
Ampicillin	1961	1973
Cephalosporins	1960s	late 1960s
<i>Herbicides</i>		
2,4-D	1945	1954
Dalapon	1953	1962
Atrazine	1958	1968
Picloram	1963	1988
Trifluralin	1963	1988
Triallate	1964	1987
Dictofop	1980	1987

Különböző antibiotikumok használatának kezdete és az első rezisztens törzsek megjelenése.

Ezek a rezisztens törzsek számos problémát okozhatnak főként az egészségügy területén, így mindenképp fontos, hogy megjelenésüket és terjedésüket gátoljuk. Ehhez az egészségügyi intézetekben is a lehető legkevesebb kemikáliát kellene alkalmazni, továbbá lényeges lenne a környezetbe kikerülő vegyi anyagok mennyiségének csökkentése is. Sajnos a ma elterjedten használt technológiák ezek egyikét sem teljesítik.