

Óbudai Egyetem

Doktori (Ph.D.) értekezés



**Multidrog-rezisztens baktériumok túlélése textíliákon:
a környezeti körülmények és az antibakteriális hatóanyagok hatása**

Hanczvikkel Adrienn

Témavezető: Dr. Tóth Ákos

Konzulens: Prof. Dr. habil. Bayoumi H. Hosam

Anyagtudományok és Technológiák Doktori Iskola

Budapest

2018.

Szigorlati bizottság:

- Elnök: Dr. Telegdi Judit, professor emerita, Óbudai Egyetem
Tagok: Prof. Dr. Szabó Dóra, MTA doktor, egyetemi tanár, Semmelweis Egyetem
Dr. Borsa Judit, professor emerita, Óbudai Egyetem

Nyilvános védés teljes bizottsága:

- Bírálok: Dr. Damjanova Ivelina, főtanácsos, Országos Közegészségügyi Intézet
Dr. Kardos Gábor, adjunktus, Debreceni Egyetem
Dr. Sveiczter Ákos, egyetemi docens, Budapesti Műszaki Egyetem (póttag)
- Elnök: Dr. Telegdi Judit, professor emerita, Óbudai Egyetem
- Tag: Dr. Kokasné Palicska Livia, vezérigazgató, Innovatext Textilipari Műszaki Fejlesztő és Vizsgáló Intézet Zrt.
- Titkár: Dr. Nagyné Szabó Orsolya, adjunktus, Óbudai Egyetem
Dr. Oroszlány Gabriella, adjunktus, Óbudai Egyetem (póttag)

Nyilvános védés időpontja:

TARTALOMJEGYZÉK

1	Rövidítések jegyzéke	6
2	Bevezetés, témamegjelölés	9
3	Irodalmi áttekintés	10
3.1	Nozokomiális fertőzések	10
3.2	Nozokomiális fertőzéseket okozó baktériumok	12
3.2.1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14
3.2.2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	20
3.2.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	23
3.2.4	<i>Enterococcus faecium</i>	28
3.3	Pamut és poliészter szövetek	33
3.4	Élettelen felületek (textíliák) szerepe a kórokozók terjesztésében	36
3.5	Antibakteriális textíliák	37
3.6	Baktériumok antibakteriális szerekkel szembeni rezisztenciája	39
3.6.1	<i>K. pneumoniae</i> és <i>A. baumannii</i> réz-homeosztázis és ezüstrezisztencia rendszerei	40
4	Célkitűzések	43
5	Anyagok és módszerek	44
5.1	Baktériumok	44
5.2	Textíliák	44
5.2.1	Kezeletlen textíliák	44
5.2.2	100% pamut lepedő antibakteriális kikészítése	44
5.3	Túlélőképesség vizsgálata textíliák felületén	45
5.3.1	Környezeti körülmények hatásainak vizsgálata	47
5.3.2	Antibakteriális hatóanyagok hatékonyságának vizsgálata	48
5.3.3	Antibakteriális kikészítésű textíliák hatékonyságának vizsgálata	48

5.4	Ezüstreisztencia vizsgálata	49
5.4.1	Ezüstreisztencia indukálása szoktatási kísérletek révén	49
5.4.2	Új-generációs DNS szekvenálás	50
5.4.3	Növekedési görbék ezüstmentes és ezüstöt tartalmazó közegben	51
5.4.4	Túlélőképesség vizsgálata kontroll és T27-22-Silver lepedőn	51
5.4.5	Konjugációs kísérletek.....	51
6	Eredmények	52
6.1	Környezet hatása a MDRB felületi túlélőképességére.....	52
6.1.1	Előkísérlet	52
6.1.2	Átfogó kísérlet	53
6.2	Antibakteriális textíliák hatékonysága	55
6.2.1	Hatóanyagok hatékonysága	55
6.2.2	Antibakteriális textíliák előkísérlet.....	56
6.2.3	Antibakteriális textíliák átfogó kísérlet.....	57
6.3	Ezüstreisztencia.....	63
6.3.1	Ezüst-nitrát szoktatási kísérlet eredménye.....	63
6.3.2	Ezüstreisztencia mechanizmusának vizsgálata (<i>K. pneumoniae</i>)	64
7	Megbeszélés.....	71
7.1	MDRB túlélése textil felületeken.....	71
7.1.1	Kezeletlen, 100% pamut lepedő	72
7.1.2	Textília szövése és kémiai összetétele	74
7.1.3	Inokuláló médium	75
7.1.4	Hőmérséklet és páratartalom	76
7.2	MDRB túlélése antibakteriális textíliákon	77
7.2.1	Hatóanyagok hatékonysága	77
7.2.2	Antibakteriális textíliák.....	79
7.3	Ezüstreisztencia.....	85

7.3.1	Ezüstreziisztencia – <i>K. pneumoniae</i>	85
7.3.2	Ezüstreziisztencia – <i>A. baumannii</i>	89
7.4	Eredményeink hasznosíthatósága.....	91
8	Záró következtetések, tézispontok.....	92
8.1	MDR baktériumok túlélőképessége kezeletlen textíliákon.....	92
8.2	Antibakteriális textíliák hatékonysága	94
8.3	Ezüstreziisztencia (multidrog-rezisztens <i>K. pneumoniae</i>)	94
9	Összefoglaló.....	96
10	Summary.....	97
11	Irodalmi hivatkozások listája	98
12	A tézispontokhoz kapcsolódó saját tudományos közlemények	113
12.1	MDR baktériumok túlélőképessége kezeletlen textíliákon	113
12.2	Antibakteriális textíliák hatékonysága	113
12.3	Ezüstreziisztencia (multidrog-rezisztens <i>K. pneumoniae</i>).....	114
13	További saját tudományos közlemények.....	114
14	Köszönetnyilvánítás.....	115
15	Melléklet	116

1 RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AAC	aminoglikozid-acil-transzferáz
A-érték	Antibakteriális Aktivitás Érték
ANT	aminoglikozid nukleotidil-transzferáz
APH	aminoglikozid foszfo-transzferáz
ATCC	American Type Culture Collection
AUC	Area Under the Curve (görbe alatti terület)
BHI	Brain Heart Infusion (agy- és szívkivonat tápleves)
bp	bázispár
CA-MRSA	Community-acquired (közösségben szerzett) methicillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
CC	Clonal complex (klonális komplex)
CDC	Centers for Disease Control and Prevention (Betegségmegelőző és Járványügyi Központ)
CFU	Colony Forming Unit (telepképző egység)
CG	Clonal group (klonális csoport)
CHASRI	Copper Homeostasis and Silver Resistance Island (réz-homeosztázis- és ezüstrezisztencia-sziget)
CI	Confidence Interval (megbízhatósági tartomány)
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CTX-M	β -laktamáz, Cefotaximáz-München
DHA	szerzett AmpC-típusú β -laktamáz gén
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control (Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ)
ESBL	Extended-spectrum β -lactamase (kiterjedt-spektrumú β -laktamáz)
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Antimikrobiális szerekkel szembeni Érzékenységi Vizsgálatok Európai Bizottsága)
HAI, HCAI	Hospital-Acquired Infection, Healthcare-Associated Infection (egészségügyi ellátással összefüggő („nozokomiális”) fertőzés)
HA-MRSA	Healthcare-associated (egészségügyi ellátással összefüggő) methicillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>

IMI	imipenemet hidrolizáló β -laktamáz
IMP	imipenemmel szemben hatékony β -laktamáz
IS	insertion sequence (inszerció szekvencia)
kbp	kilobázispár
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> karbapenemáz
LA-MRSA	livestock-associated MRSA (állattenyésztéshez kapcsolódó)
MACI	Multidrog-rezisztens <i>Acinetobacter baumannii</i>
MALDI	Matrix assisted laser desorption ionization (Mátrixasszisztált lézerdeszorpció-ionizációs tömegspektrométer)
MBC	Minimum Bactericidal Concentration (minimális baktericid koncentráció)
MBL	Metallo- β -laktamáz
McF	McFarland (baktériumszuszpenzió optikai denzitása $0,5 \text{ McF} \approx 1,5 \times 10^8$ CFU/ml <i>Escherichia coli</i> esetében)
MDR	multidrog-rezisztens
MDRB	multidrog-rezisztens baktérium(ok)
<i>mecA</i>	PBP2a fehérjét kódoló gén
MIC	Minimum Inhibitory Concentration (minimális gátló koncentráció)
MLST	multilókusz szekvencia tipizálás
MRKP	Multidrog-rezisztens <i>Klebsiella pneumoniae</i>
MRSA	methicillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	Új-Delhi metallo- β -laktamáz
OKI	Országos Közegészségügyi Intézet
Omp	Outer membrane protein (külső membrán protein)
ORF	Open Reading Frame (nyitott leolvasási keret)
OXA	β -laktamáz, Oxacillinnel szemben aktív
PBP	Penicillin binding protein (Penicillin-kötő fehérje)
PFGE	Pulsed-Field Gel Electrophoresis (pulzáló erőterű gélelektroforézis)
PMQR	plasmid-mediated quinolone resistance (plazmid mediált kinolon rezisztencia)
QAC	kvaterner ammóniumsók (antimikrobiális hatóanyag)
QRDR	Quinolone resistance determining region (kinolon rezisztenciát meghatározó régió)

R-érték	Redukciós Ráta Érték
Rh	Relative humidity (relatív páratartalom)
SCC _{mec}	staphylococcal cassette chromosome mec
SEM	Scanning Electron Microscope (pásztázó elektronmikroszkóp)
SHV	β-laktamáz, Sulphydryl Reagent Variable
SNP	single nucleotide polymorphism (egyponos nukleotid polimorfizmus)
ST	szekvencia típus
T	temperature (hőmérséklet)
T27-22-Silver Sanitized	T27-22 antimikrobiális kikészítőszer, hatóanyaga: 2 m/m% AgCl és 8 m/m% TiO ₂
T99-19-QAC Sanitized	T99-19 antimikrobiális kikészítőszer, hatóanyaga: 50 m/m% dimetil-tetradecil(3-(trimetoxiszilil)propil)ammónium-klorid)
TEM	β-laktamáz, Temoniera beteg neve után
<i>vanA</i> , <i>vanB</i>	Vankomicin rezisztencia gének
VIM	Veronai, integronon kódolt metallo-β-laktamáz
VRE	Vankomicin-rezisztens <i>Enterococcus faecium</i>
WGS	Whole Genome Sequencing (teljes genom szekvenálás)
WHO	World Health Organisation (Egészségügyi Világszervezet)
XDR	extensively drug-resistant (kiterjedt szerzett antibiotikum-rezisztencia)

2 BEVEZETÉS, TÉMAMEGJELÖLÉS

Az egészségügyi ellátással összefüggő fertőzések súlyos problémát jelentenek világszerte. Jelentősen növelik a megbetegedések, az ellátási napok és a halálozások számát, rontják a betegek életminőségét, emelik az egészségügyi kiadások költségeit és az antibiotikum-rezisztens mikroorganizmusok elterjedésének valószínűségét. Kiemelt figyelmet érdemelnek a multidrog-rezisztens baktériumok (MDRB) okozta fertőzések, melyek kezelése egyre nagyobb kihívás elé állítja a klinikusokat.

Az egészségügyi ellátással összefüggő fertőzések rizikófaktorai közé tartoznak az alkalmazott kezelések, a beteg általános állapota, illetve a kórokozókkal kontaminált élettelen felületek. A felületeken túlélő kórokozók a személyzet, betegek és látogatók közvetítésével továbbterjedhetnek, ami újabb fertőzésekhez vezethet, ezért a környezeti kontamináció csökkentése az infekciókontroll egyik alapvető feladata. A megelőzés során kiemelt figyelmet érdemelnek a beteg testével érintkező, a személyzet és a látogatók által gyakran érintett textíliák (pl. ágynemű, hálóruga, törölköző). Ennek ellenére rendkívül keveset tudunk a MDRB kvantitatív túlélőképességéről a kórtermekben használt textíliákon, egészségügyi szempontból releváns időtartamokban.

A környezeti kontamináció csökkentésének, a fertőzések megelőzésének egyik lehetséges eszköze az antibakteriális textíliák alkalmazása. Napjainkban már számos hatóanyag áll rendelkezésre, és ezek népszerűsége folyamatosan emelkedik, holott igen kevés kutatás vizsgálta hatékonyságukat az egészségügyi fertőzésekben kiemelt szerepet játszó MDRB-kal szemben. Egyre nagyobb mértékű, esetenként indokolatlan használatuk ugyanakkor felveti a széleskörű bakteriális rezisztencia kialakulásának lehetőségét, ami veszélyeztetheti az antimikrobiális hatóanyagok hatékonyságát.

Kutatásaink során szisztematikusan, kvantitatív módszerekkel vizsgáltuk az összefüggéseket egészségügyi fertőzésekben fontos szerepet játszó MDRB túlélőképessége, alapvető kórházi textíliák és körülmények, illetve népszerű antimikrobiális hatóanyagok hatása között. Eredményeink hozzájárulhatnak a kontaminált felületek okozta fertőzésveszély alaposabb megismeréséhez, a betegbiztonság növeléséhez.

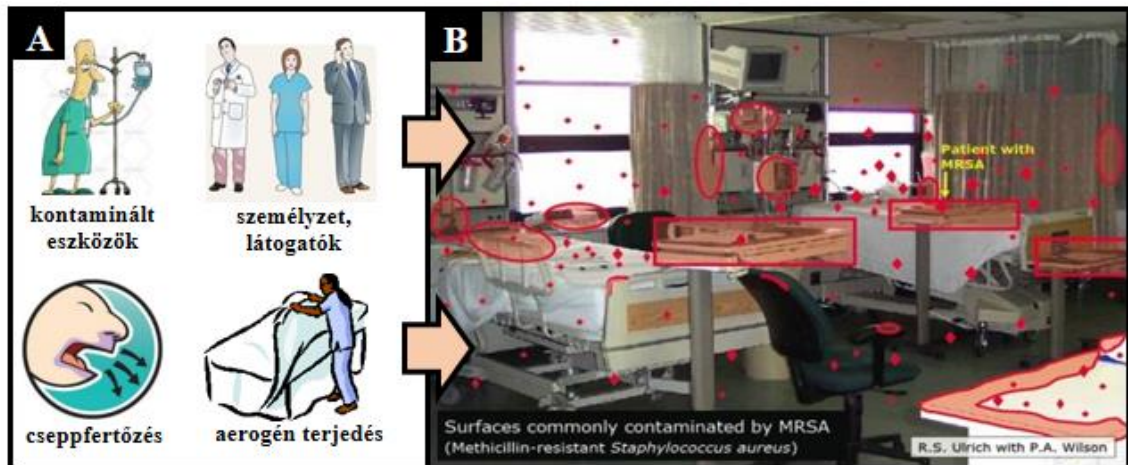
3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1 Nozokomiális fertőzések

A nozokomiális fertőzés olyan helyi vagy szisztémás kóros állapot, amit az egészségügyi ellátás során a beteg szervezetébe kerülő kórokozó vagy annak toxinja vált ki [1]. A nozokomiális fertőzéseknek két nagy csoportját különböztetik meg az angol nyelvű szakirodalomban: Hospital-Acquired Infection – HAI, illetve Healthcare-Associated Infection – HCAI. Mindkettő kifejezés az egészségügyi intézményben szerzett fertőzéseket foglalja magába, de a definícióik különböznek. A HAI olyan fertőzéseket jelent, melyeknél a beteg első tünetei legalább 48 órával a kórházi felvételt követően jelennek meg. A fertőzés tehát lappangó állapotban sem volt jelen a felvétel előtt [2]. A HCAI fogalom esetében a tünetek a kórházi felvételt követő 48 órán belül jelennek meg, de fontos kritérium, hogy a beteg a megelőző egy évben, valamely egészségügyi intézményben ellátásban részesült [3]. Az egészségügyi személyzet, illetve a látogatók egészségügyi intézményben szerzett fertőzései szintén a nozokomiális fertőzések közé tartoznak [4]. A nozokomiális fertőzések leggyakoribb típusai a húgyúti- és műtéti sebfertőzések, a véráramfertőzés, szepszis és a tüdőgyulladás [1].

A nozokomiális fertőzés intrinsic (belső, a beteg állapotából eredő) rizikófaktorai közé tartozik a beteg általános állapota, például extrém életkora (idősek, koraszülöttek) vagy alapbetegsége (pl. rosszindulatú daganatos betegségek, HIV fertőzés, cukorbetegség). Extrinsic (külső eredetű) rizikófaktorok jelentenek a diagnosztikai vagy kezelési célú, invazív orvosi beavatkozások (pl. műtét, katéterezés, mesterséges lélegeztetés), a gyógyszeres kezelés (pl. antibiotikumok, immunreakciókat befolyásoló készítmények szedése), illetve a kórokozókkal kontaminált felületek [5].

A nozokomiális fertőzés forrása lehet endogén vagy exogén. Endogén forrás például a beteg bőrének, orrának, gastrointestinalis traktusának (emésztőszervrendszer) a mikrobiótája [1]. Az exogén források közé a betegeket ellátó személyzet, a látogatók, az ápolási és orvosi eszközök, illetve a kórházi környezet tartozik [1]. A kórokozó terjedése történhet többek között cseppfertőzéssel, aerogén módon (pl. ágyazás során), direkt (pl. kórokozót ürítő beteg érintése) vagy indirekt (pl. ápoló személyzet kezének közvetítése, eszközök révén) kontaktus révén (1. ábra).



1. ábra: A: Nozokomiális fertőzéseket okozó kórokozók terjedésének gyakori mechanizmusai. B: Ulrich és mtsai. ábrája, mely egy MRSA-val fertőzött beteg ágyát és a betegből származó MRSA törzs által kontaminált kórtermi felületeket szemlélteti [6].

A beteg és a környezet kontaminációja közötti összefüggést több tanulmány is alátámasztja. Pulzáló erőterű gélelektroforézis (PFGE) vizsgálatok alapján megkülönböztethetetlen methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA) [7, 8] és koaguláz-negatív *Staphylococcus* sp. izolátumokat [9] mutattak ki a betegek testéből, az ápolók kezéről és környezeti mintákból (1. ábra).

Borkow és Gabbay összefoglalója alapján az ágyazás, ágyneműcsere jelentősen megnöveli a levegőben található mikroorganizmusok számát [10]. Vizsgálatuk során a kórteremben 10-26-szorosára, a folyosón 2-szeresére nőtt a mikroorganizmusok száma a levegőben, és 30 percre volt szükség az ágyazás előtt mért háttérértékre való visszaálláshoz. Az aerogén terjedés révén a kórokozók bármely felületen megtelepedhetnek. A felületek kórokozók terjesztésében betöltött szerepét Cohen és mtsi. tanulmánya is alátámasztja. Megállapították, hogy egy fertőzött szobatárs 4,8-szeresére (95%-os konfidencia intervallum (CI): 3,7-6,3), egy olyan ágy, amiben korábban egy nozokomiális fertőzésben szenvedő beteg feküdt 5,8-szorosára (95% CI: 3,6-9,4) növeli az újonnan felvett beteg megfertőződésének kockázatát [11]. Az ápolószeméllyel, illetve több beteggel gyakran kapcsolatba kerülő, kórokozókkal fertőzött tárgyak járványok forrásai is lehetnek.

Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organisation – WHO) 2016-os adatai alapján a fejlődő és a fejlett országokban a betegek 10%, illetve 7%-a szerez legalább egy nozokomiális fertőzést az egészségügyi ellátás során [12]. A nozokomiális fertőzések körülbelül 10%-a végződik a beteg halálával [12].

Az Európai Betegségmegelőzési és Járványvédelmi Központ (European Centre for Disease Prevention and Control – ECDC) 2011-2012-es pont prevalencia felmérése szerint az európai kórházakban ápolott betegek átlagosan 6%-a volt érintett a nozokomiális fertőzésekben. A prevalencia értékek 2,3% (Lettország) és 10,8% (Portugália) között változtak, Magyarországon a betegek 5%-a szenvedett nozokomiális fertőzéstől a vizsgálat időpontjában [13]. Az ECDC 2015-ös adatokat feldolgozó tanulmánya szerint évente körülbelül 4 millió beteg fertőződik meg Európában az egészségügyi intézményekben [14]. A becslések szerint Európában a nozokomiális fertőzések évente 16 millióval növelik meg az ápolási napok számát, 7 milliárd euróval az ápolási költségeket, miközben közvetlenül évi 37 ezer, közvetve pedig még 110 ezer halálesetet okoznak [12, 14, 15].

Hazánkban 2016-ban 4830 MDR baktérium által okozott nozokomiális fertőzést jelentettek be [16]. A MDRB okozta nozokomiális fertőzések országos incidenciája 23,4 volt 10 000 kibocsátott betegre vonatkoztatva, az értékek 0,5 és 206,3 között változtak [16]. A MDRB okozta nozokomiális infekciókban megbetegedett ápoltak átlagosan 49,5 napot töltöttek fekvőbeteg ellátó intézményekben. A fertőzések legnagyobb arányát a húgyúti- (27,5%), seb- (24%) és véráramfertőzések (24%), a tüdőgyulladás (10,8%) és az alsó légúti fertőzések (10,1%) tették ki. A betegek 39,1%-a belgyógyászati, 33,4%-a sebészeti és 20,7%-a intenzív osztályokon fertőződött meg [16]. A felmérés alapján a leggyakoribb rizikótényezők közé tartozott az antibiotikum-terápia, a húgyúti katéter használata és az intenzív osztályon történő kezelés.

3.2 Nozokomiális fertőzéseket okozó baktériumok

Az egészségügyi intézményekben terjedő baktériumok sokféle fertőzést képesek okozni, kezdve a lokális, felületi bőrfertőzésektől, a lágy szövetek, műtéti sebek, húgyutak fertőzésén át az életet veszélyeztető véráramfertőzésekig, tüdő- vagy agyhártyagyulladásig [15, 17-20]. A terápiás lehetőségek beszűkülése miatt különösen nagy veszélyt jelenthetnek az antibiotikumokkal szemben ellenálló (rezisztens) baktériumcsoportok.

Az első modern antibiotikumok a 20. század elején jelentek meg (1909. Ehrlich: arzfénamin), bár magát az antibiotikum kifejezést csak 1941-ben használta először Selman Walksman, aki maga is több, mint húszféle antibiotikumot fedezett fel [21]. A kezdetben csodaszernek tekintett penicillinek nagymértékű gyártásával széles körben

elterjedt az antibiotikumok használata, megkezdődött az antibiotikumok aranykora. Hamar kiderült azonban, hogy az antibiotikumok mégsem mindenható csodaszerek. Sir Alexander Fleming már 1945-ben felhívta a figyelmet, hogy a helytelen alkalmazás szerzett antibiotikum-rezisztencia megjelenéséhez vezethet [22]. A baktériumok az antibiotikumokkal szemben természetes és szerzett rezisztenciával is rendelkezhetnek [23]. A természetes antibiotikum-rezisztencia az adott baktériumcsoport „veleszületett” tulajdonsága, amely a csoport valamennyi tagjára jellemző. Szerzett antibiotikum-rezisztencia esetén a mikroorganizmus olyan antibiotikummal szemben válik nem-érzékenyvé, amit eredetileg hatékonyan lehetett használni az általa okozott fertőzések kezelésére [24-28]. A szerzett rezisztencia a megfelelő gének mutációjával (endogén mód), vagy horizontálisan, mobilis genetikai elemeken (pl. plazmid, transzpozon) kódolt gének felvételével alakulhat ki (exogén mód) [23]. A rezisztencia gének horizontális átvitelét az 1950-es évek közepén Japánban fedezték fel [29]. A fertőzések kezelését nagyban megnehezíti, hogy a baktériumok képesek halmozni, és akár egyben terjeszteni a rezisztenciáért felelős géneket. Definíció szerint egy baktérium törzs multidrog-rezisztens (MDR), ha nem-érzékenységet mutat legalább három terápiás szempontból alkalmazható antibiotikum-csoport egy-egy tagjával szemben [28]. Kiterjedt szerzett rezisztenciáról van szó (extensively drug-resistant – XDR), ha a baktérium nem-érzékenységet mutat legfeljebb kettő kivételével az összes terápiásan alkalmazható antibiotikum-csoport legalább egy-egy tagjával szemben. A baktériumot pánrezisztensnek nevezzük, ha az összes antibiotikum-csoporttal szemben nem-érzékenységet mutat [30].

Az ezredfordulóig elsősorban a multidrog-rezisztens Gram-pozitív baktériumok okozták a legnehezebben kezelhető nozokomiális fertőzéseket, de az elmúlt közel két évtizedben a multidrog-rezisztens Gram-negatív baktériumok is bekerültek a legfontosabb egészségügyi patogének közé [31]. A nozokomiális fertőzések jelentős részéért egy kisszámú MDRB-csoport a felelős, melyekre hivatkozhatunk az angol „ESKAPE” mozaikszóval. A rövidítés hat, a nozokomiális fertőzésekben kulcsszerepet betöltő MDRB-csoportot jelöl: Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa és Enterobacter fajok [32]. Ezen baktériumcsoportok kiegészítésére 2009-ben Peterson L. R. javasolta az „ESCAPE” mozaikszó bevezetését, mely a fent említetteken kívül magában foglalja a Clostridium difficile fajt, az antibiotikum kezeléssel összefüggő hasmenés egyik fő

okozóját, illetve egészében az *Enterobacteriaceae* családot [33]. A globális trendnek megfelelően az „ESKAPE” illetve „ESCAPE” kórokozók hazánkban is a nozokomiális fertőzések leggyakoribb okozói [16]. Vizsgálatainkhoz a felsorolt baktériumcsoportok közül négyet választottunk ki.

3.2.1 *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* pálcá alakú, tokot képző, Gram-negatív baktérium, az *Enterobacteriaceae* család *Klebsiella* nemzetségének egészségügyi szempontból legjelentősebb tagja. A *Klebsiella* nemzetség okozta humán fertőzések 70%-áért a *K. pneumoniae* faj felelős [34]. A *K. pneumoniae* ubikviter baktérium, megtalálható a talajban, az élő- és szennyvizekben, a növények felületén, illetve tagja az egészséges emberek és állatok normál mikrobiótájának. Az emberi szervezetben a bélrendszerben (székletben való előfordulási arány: 5-38%) és az orrgarat üregben (előfordulási arány: 1-6%) fordul elő, mint szaprofita baktérium [20].

A *K. pneumoniae* opportunista patogén, elsősorban a kórházi kezelésre szoruló, alapbetegségük miatt legyengült immunrendszerű embereket, illetve az újszülötteket és időseket veszélyezteti. Podschun és Ullmann összefoglalója alapján a kórházban töltött idővel arányosan, drasztikusan emelkedik a *K. pneumoniae* kolonizációs aránya [20]. A baktérium nemcsak az orrgarat üregben (előfordulási arány: 19%) és a székletben (előfordulási arány: 77%) volt jelen nagyobb arányban, de az esetek 42%-ban a betegek és ápolók kezéről is sikerült izolálni, pedig a kórházakon kívül ritkán fordul elő az emberek bőrén [20]. A *K. pneumoniae* izolátumok világszerte egyre nagyobb számú és egyre súlyosabb nozokomiális fertőzéseket okoznak elsősorban a perinatális és felnőtt intenzív osztályokon. Gyakori okozói a húgyúti- és véráramfertőzéseknek, illetve a tüdőgyulladásnak [35]. Egyes hipervirulens törzsek máj-, tüdő- és agytályogok kialakulását is okozhatják [36]. Az első hipervirulens törzset 2004-ben írták le Taiwanon [37]. Kezdetben Ázsiában, főként területi fertőzésekben fordult elő, de az utóbbi években számos európai államban, többek között Spanyolországban [38], Németországban [39] és Franciaországban [40] is leírták a megjelenését.

A *K. pneumoniae* természetes és szerzett antibiotikum-rezisztenciamechanizmusokkal egyaránt rendelkezik. Valamennyi törzsnek természetes rezisztenciája van a β -laktám antibiotikumok közé tartozó aminopenicillinekkal szemben. A β -laktám antibiotikumok a bakteriális sejtfal felépítésében kulcsszerepet játszó peptidoglikán kialakulását

gátolják. Számos csoportjuk ismeretes (pl. penicillinek, cefalosporinok, karbapenemek, monobaktámok), melyek különböző mértékben hatékonyak a Gram-negatív és Gram-pozitív kórokozók ellen. Sokoldalúságuk és széles hatásspektrumuk következtében a β -laktámok a leggyakrabban alkalmazott antibiotikumok közé tartoznak. A *K. pneumoniae* törzsek természetes β -laktám-rezisztenciáját a szűk spektrumú β -laktamáz enzim (például SHV-1, -11, -28, OKP, LEN) termelése okozza, mellyel képesek hidrolizálni az aminopenicillineket [24]. A MDR és XDR *K. pneumoniae* törzsek okozta súlyos szisztémás fertőzések kezelése szempontjából öt antibiotikum-csoportnak van kiemelt jelentősége: (i.) 3. generációs cefalosporinok, (ii.) karbapenemek, (iii.) aminoglikozidok, (iv.) fluorokinolonok, illetve (v.) polymixinek. Azonban a kórokozó valamennyi antibiotikum-csoport ellen rendelkezhet szerzett rezisztenciával.

A β -laktám antibiotikumokkal szemben az elmúlt két évtizedben számos rezisztencia-mechanizmust mutattak ki, melyek génjei horizontálisan terjednek a *K. pneumoniae* fajon belül, illetve egyéb baktériumfajok között is. Ilyenek az először 1983-ban azonosított, és azóta világszerte elterjedt kiterjedt spektrumú β -laktamázok (extended-spectrum β -lactamases – ESBLs). Az ESBL enzimek többsége az Ambler-féle „A” osztályba tartozik, diagnosztikai szempontból fontos jellemzőjük, hogy klavulánsavval, tazobaktámmal, amino-fenil-boronsavval gátolhatóak. Klinikai szempontból legjelentősebbek a *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} és *bla*_{TEM} gének által kódolt ESBL-enzimek. A *K. pneumoniae* törzsek között előfordulnak az Ambler-féle „D” osztályba tartozó, specifikus gátlószerezrel nem rendelkező OXA-típusú, illetve a „C” osztályba tartozó, aminofenil-boronsavval és kloxacillinnel gátolható AmpC-típusú cefalosporináz enzimek is. Az említett széles spektrumú β -laktamázok képesek hidrolizálni az aminopenicillinek, karboxipenicillinek, 3. generációs cefalosporinok, illetve az „A” és „C” osztályú enzimek akár a monobaktámok β -laktám gyűrűjét is, a karbapenemeket viszont nem [41]. A karbapenemek a β -laktámok között utolsó bástyaként szolgáló, széles spektrumú (Gram-negatív, Gram-pozitív, aerob, anaerob baktériumok) antibiotikumok, melyekkel szemben a *K. pneumoniae* törzsek többféle mechanizmus révén is rezisztenssé válhatnak. Az ESBL, illetve AmpC β -laktamáz gének porinvesztéssel (OmpK35, OmpK36) kombinált túltermelése, illetve a karbapenemáz enzimek termelése is világszerte elterjedt. A *K. pneumoniae* által termelt karbapenemáz enzimek közül klinikailag jelentősek az aktív-centrumban szerin molekulát hordozó Ambler-féle „A” (pl. *bla*_{KPC}) és „D” osztályba (pl. *bla*_{OXA-48} csoport), illetve az aktív

centrumban cinkiont tartalmazó, dipikolinsavval vagy etilén-diamin-tetraecetsavval (EDTA) gátolható „B” osztályba (metallo- β -laktamázok: pl. *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}) tartozók [24].

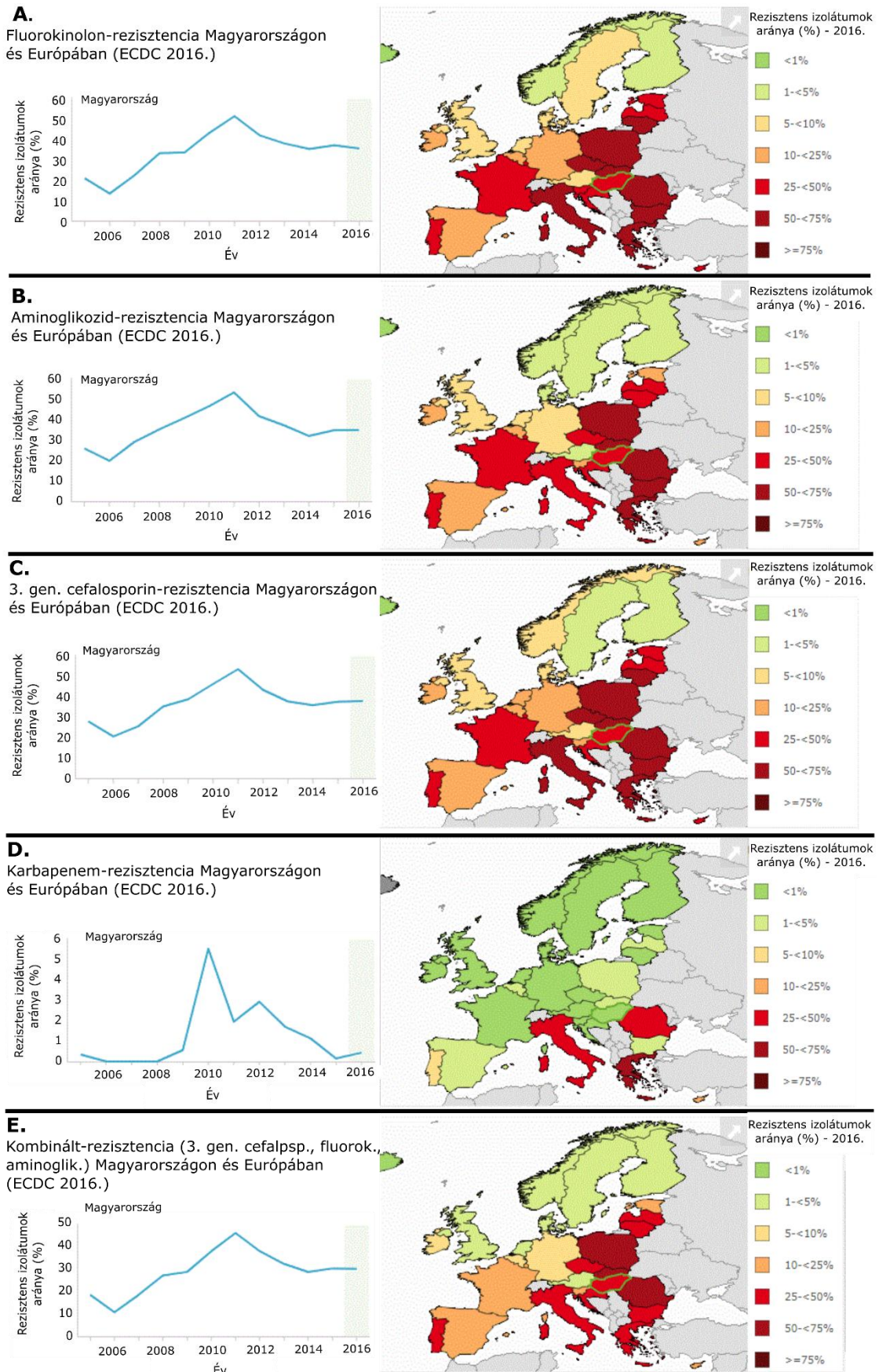
Az aminoglikozidok baktericid vegyületek, melyek a bakteriális riboszóma 30S alegységéhez kötődve gátolják a baktérium fehérjeszintézisét. Az első aminoglikozidot 1944-ben Walksman és mtsai. írták le [42]. Széles spektrumú antibiotikumok, hatásosak a Gram-pozitív és Gram-negatív aerob és fakultatív anaerob baktériumok ellen, viszont hatástalanok az anaerob patogénekkal szemben. Valamennyi aminoglikozid nefro-, oto- és neurotoxikus, de toxicitásuk csökkenthető penicillinekkal vagy cefalosporinokkal kombinációban adva, ugyanis a szinergikus hatás miatt alacsonyabb dózis is elegendő. A *K. pneumoniae* törzsek körében az aminoglikozid-rezisztencia leggyakoribb módja az antibiotikumokat hasító, és így funkcióképtelenné tevő enzimek termelése. Ide tartoznak az aminoglikozid foszfotransferázok (APH), az aminoglikozid acetiltransferázok (AAC) és az aminoglikozid nukleotidil-transferázok (ANT) [43]. A hasító enzimek mellett problémát okoz a különböző 16S rRNS metiláló enzimek terjedése is, melyek teljes keresztrezisztenciát biztosítanak a jelenleg forgalomban lévő összes aminoglikoziddal szemben [44]. Többféle rRNS-t metiláló enzimet kódoló gént írtak le a Gram-negatív patogének különböző csoportjaiban pl.: *armA* (első leírás: *Citrobacter freundii* izolátumban), *rmtA* (*Pseudomonas aeruginosa*), *rmtB* (*Serratia marcescens*), *rmtC* (*Proteus mirabilis*) és *rmtD* (*P. aeruginosa*) [45]. Horizontális géntranszfer révén a gének gyorsan elterjedhetnek az egészségügyi szempontból jelentős kórokozók között.

A fluorokinolonok a baktériumok DNS szintézisét gátolják a DNS-giráz és a topoizomeráz IV. enzimek működésének akadályozása révén. Gátolják a DNS-hélix kitekeredését és ezáltal a génállomány duplikációját. A *K. pneumoniae* törzsekben megtalálható az összes Gram-negatív baktériumokra jellemző fluorokinolon-rezisztenciamechanizmus. Az endogén mechanizmusok közé tartoznak a célmolekulákat kódoló gének (*gyrA*, *gyrB*, *parC*) mutációi, melyek magas szintű fluorokinolon-rezisztenciát okoznak, az antibiotikum intracelluláris szintjének csökkenését eredményező effluxpumpák (pl. OqxAB) megnövekedett, illetve porinok (pl.: OmpK35, OmpK36) csökkent kifejeződése. Horizontálisan terjedő, alacsony szintű rezisztenciát okozó, exogén mechanizmusok is előfordulnak a *K. pneumoniae* csoportokban, így a giráz és topoizomeráz IV. enzimeket védő fehérjéket kódoló gének (pl. *qnr*) hordozása

és az amidoglikozidok mellett fluorokinolonokat is bontó enzimek termelése (pl.: *aac(6')*-*Ib-cr* gén) [43, 46].

Az multidrog-rezisztens törzsek okozta fertőzések kezelésére az egyik utolsó választható antibiotikum a polymixinek csoportjába tartozó colistin, mely a Gram-negatív baktériumok sejtmembránjának lízisével fejt ki baktericid hatását. A colistin a negatív töltésű lipopoliszacharidokhoz (lipid-A molekula) kötődve károsítja a baktériumok külső membránját, ami többek között a Ca^{2+} és Mg^{2+} -ionok kiáramlásával a sejtek pusztulásához vezet [47]. A colistint 1947-ben fedezték fel, és az 1950-es évektől elterjedten használták, egészen az 1970-es évekig, amikor nefrotoxicitása miatt korlátozták alkalmazását. Az utóbbi években a MDR Gram-negatív kórokozók előretörésével újra a humán medicina fókuszába került [48]. A polymixinekkel szemben a *K. pneumoniae* törzsek kromoszómális és plazmidon kódolt rezisztenciamechanizmussal is rendelkezhetnek. A rezisztencia molekuláris alapja minden esetben a kórokozó külső membránját alkotó lipopoliszacharidok enzimátikus módosítása, pozitív töltésű csoportok (pl. 4-amino-4-deoxy-L-arabinóz vagy foszfoetanolamin) hozzákapcsolása révén. A módosítást követően a külső membrán elektrosztatikusan taszítja a polymixin molekulákat. A kromoszómálisan kódolt gének (*phoP*, *phoQ*, *pmrA*, *pmrD*, *mgrB*) terápiát veszélyeztető, magas szintű rezisztenciát okozó változásai mellett, 2016-ban leírták az első plazmidon kódolt, alacsony szintű colistin-rezisztenciát okozó *mcr-1* gént is [49].

Az ECDC jelentése alapján Európában a 2016-ban a megvizsgált, invazív fertőzésekből származó *K. pneumoniae* törzsek több mint harmada (34,5%) rezisztensnek bizonyult legalább egy antibiotikum-csoporttal szemben [36]. A rezisztens törzsek 25,7%-a volt ellenálló a 3. generációs cefalosporinok, 24,6%-a a fluorokinolonok, 19%-a az aminoglikozidok és 6,1%-a a karbapenemekkel szemben [36]. A leggyakoribb fenotípus a három antibiotikum-csoporttal (3. gen. cefalosporinok, aminoglikozidok, fluorokinolonok) szembeni kombinált rezisztencia volt. A rezisztens törzsek 42,5%-a kombinált rezisztenciát mutatott. A rezisztens izolátumok aránya 2013. és 2016. között szignifikánsan csökkent Európában, a karbapenem-rezisztens *K. pneumoniae* törzsek kivételével [36]. Az utolsó terápiás lehetőségként alkalmazható colistinnel szemben a megvizsgált törzsek 8,5%-a volt rezisztens. Az antibiotikumok fogyasztásának mértéke, és ezzel összefüggésben az adott antibiotikummal szemben rezisztens törzsek aránya dél, illetve kelet felé nő Európában (2. ábra).



2. ábra: Különböző antibiotikum-csoportokkal szemben rezisztens *K. pneumoniae* törzsek aránya Európában [50]

A magyarországi *K. pneumoniae* törzsek rezisztencia aránya a karbapenemek kivételével az európai trendeknél magasabb volt 2016-ban (2. ábra; aminoglikozidok – 34,7%, fluorokinolonok – 35,2%, 3. generációs cefalosporinok – 37,5%, de karbapenemek – 0,4%) [50]. A kombinált rezisztencia (3. gen. cefalosporinok, aminoglikozidok, fluorokinolonok) aránya hazánkban 30,1% volt. Magyarországon a nozokomiális fertőzéseket okozó MRKP törzsek 10 000 kibocsájtott betegre vonatkozó incidencia értékei az elmúlt években folyamatos növekedést mutattak (2014: 3,0; 2015: 3,6; 2016: 4,4) [16].

Járványügyi, molekuláris tipizálási vizsgálatok révén fajon belül elkülöníthetők egymástól a különböző bakteriális klónok, így vizsgálható azok epidemiológiai jelentősége és elterjedése. A bakteriális klón akár különböző helyen és időben, eltérő forrásból izolált baktériumok csoportja, melyek fenotípusos hasonlósága miatt feltételezhető a közös eredet egy releváns időkereten belül [51]. A baktériumok földrajzi és időbeli elterjedtségének vizsgálatára általánosan használt molekuláris módszer a multilókusz szekvencia tipizálás (MLST). Az MLST vizsgálatok lényege, hogy azonosítják hét konzervatív, ún. háztartási gén adott törzs által hordozott allélvariánsait, majd ezek alapján meghatározzák annak szekvencia típusát (ST). Azokat az ST-típusokat, melyek legalább öt háztartási gén esetében azonos allélikus profillal rendelkeznek közös klonális komplexekbe (clonal complex, CC; clonal group CG) sorolják.

Az antibiotikum-rezisztencia a *K. pneumoniae* klónok széles körére jellemző, de a rezisztens klónok közül csak néhány vált globálisan is elterjedtté. Öt klonális csoport tagjai (CG258, CG14/15, CG17/20, CG43, CG147) okozták a világon 2016 júniusáig bejelentett, MLST-vel vizsgált járványok 72%-át [24]. 2016-ban a CG258 és a CG14/15 klonális csoport okozta a legtöbb járványt a világon. A CG258 klonális csoport a legismertebb és globálisan legelterjedtebb szekvencia típusú *K. pneumoniae* izolátumokat foglalja magában (ST11, ST258, ST512) [24]. Az ST11 szekvencia típus egy járványos *K. pneumoniae* klón, evolúciós előfutára az ST258 szekvencia típusnak, és sok járványért felelős elsősorban Európában és Ázsiában. Az ST258-ba tartozó törzsek rendkívül adaptívak, fő okozói a karbapenem-rezisztens *K. pneumoniae* okozta fertőzéseknek és járványoknak [24]. Míg a CG258 klóncsoport sokféle, különböző típusú karbapenemáz és ESBL gént hordozhat (*bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{CTX-M-15}), addig az ST258 és ST512 klónokra elsősorban a KPC-2 és KPC-3 karbapenemázok

jellemzőek [34]. A CG14/15 a *K. pneumoniae* másik világszerte elterjedt klóncsoportja, mely a CG258-hoz hasonlóan a klinikailag jelentős β -laktamáz gének széles skáláját hordozhatja (*bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{OXA-181} és *bla*_{VIM-1}) [24]. Magyarországon a VIM-4 típusú metallo- β -laktamáz termelő ST15 klón a legelterjedtebb. 2014-2017. között az Európában jellemző KPC-, OXA-48-típusú és NDM-típusú karbapenemázt termelő *K. pneumoniae* törzseket is azonosítottak kisebb számban, de a törzsek többsége sporadikusan fordult elő, és többnyire külföldiek vagy külföldről hazatért magyar állampolgárok hazai egészségügyi ellátása során izolálták őket (nem publikált adat, szóbeli közlés: Tóth Ákos, OKI, 2018.).

3.2.2 *Acinetobacter baumannii*

Az *Acinetobacter* nemzetségbe számos baktériumfaj tartozik, melyeket két nagy csoportra lehet osztani: az „*Acinetobacter baumannii*”-csoportra, ami magában foglalja a legtöbb egészségügyi szempontból releváns fajt (*A. baumannii*, *A. pittii* és *A. nosocomialis*) és az általában kevésbé patogén „nem-*baumannii*”-csoportra [36]. Az *A. baumannii* egyik jellegzetessége a kromoszómáisan kódolt *bla*_{OXA-51-típusú} gén hordozása, mely a rokon fajoktól jól elkülöníti [52]. Az *A. baumannii* Gram-negatív, csillótlan coccobacillus, a sejtek gyakran párban vagy különböző hosszúságú láncokban helyezkednek el. A baktérium természetes élőhelye még azonosításra vár, a vizsgálati eredmények ellentmondásosak, de kimutatták már talajból, természetes, felszíni vizekből és növények, például különböző zöldségfélék felszínéről [52]. A többi *Acinetobacter* fajjal szemben az *A. baumannii* ritkán izolálható egészséges emberek bőréről (előfordulási arány: 0,5-3%), illetve székletéből (előfordulási arány: 0,8%) [52, 53]. Ugyanakkor az *A. baumannii* gyakori az egészségügyi intézményekben, különösen az intenzív osztályokon, ahol például kanülök, katéterek használata során húgyúti-, és véráramfertőzést, vagy gépi lélegeztetéssel összefüggésben súlyos tüdőgyulladást okozhat [54]. Az *A. baumannii* különösen hosszú ideig képes túlélni kórházi környezetben köszönhetően biofilmképző képességének, szárítástűrésének, fertőtlenítőszerekkel szembeni rezisztenciájának, illetve annak, hogy a tápanyagok széles skáláját képes hasznosítani [51].

Az *A. baumannii* a β -laktám antibiotikumok több csoportjával szemben rendelkezik természetes rezisztenciával. Valamennyi törzs termel AmpC-típusú cefalosporináz enzimet, mely az első és második generációs cefalosporinokat bontja, de a széles spektrumú harmadik és negyedik generációs cefalosporinok ellen hatástalan [55].

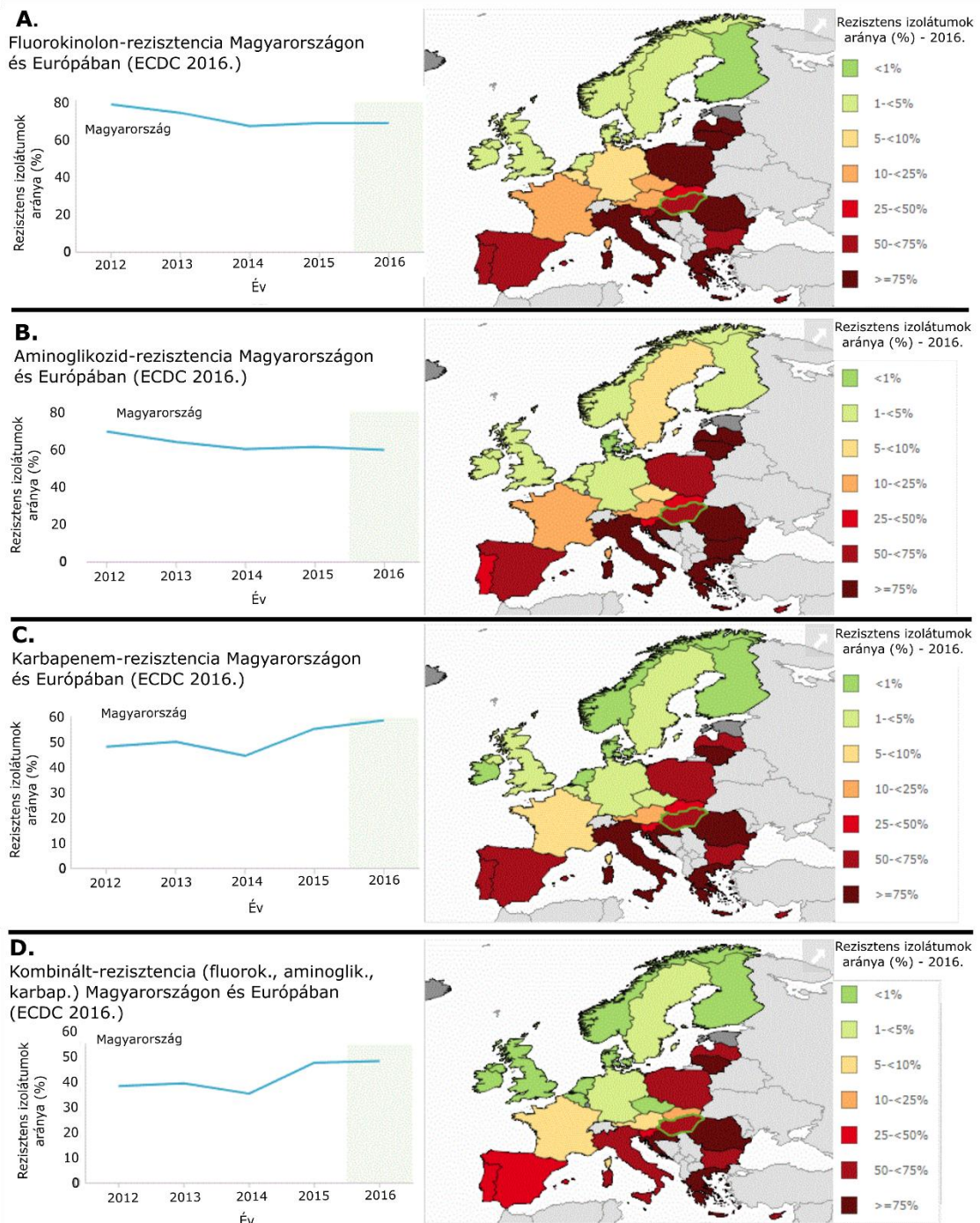
Emellett valamennyi törzs rendelkezik a *bla*_{OXA-51-típusú} génnel, mely a cefalosporinok mellett kis mértékben hidrolizálja a karbapenemeket is [51].

Az *A. baumannii* izolátumok rendelkezhetnek szerzett rezisztenciamechanizmusokkal valamennyi terápiás szempontból jelentős antibiotikum-csoporttal, így a széles spektrumú β -laktámokkal, aminoglikozidokkal és fluorokinolonokkal szemben is [51]. A természetes β -laktám-rezisztenciát okozó enzimeken kívül több, mint ötvenféle β -laktamáz enzimet írtak le *A. baumannii*-ban (néhány példa a teljesség igénye nélkül: TEM-1, -2 aminopenicillinázok; TEM-92, SHV-12, CTX-M-2 cefalosporinázok; OXA-23-, OXA-40-, OXA-58-típusú karbapenemázok; IMP-1, -2, -4, -5, -6, -11, VIM-2, SIM-1 metallo- β -laktamázok stb.) [51].

A szerzett aminoglikozid-rezisztencia az antibiotikum szerkezetét módosító, így azokat inaktiváló enzimeken alapul (acetiltransferázok, foszfortranszferázok, nukleotidil-transferázok) [51]. Szintén jellemző az *armA*, *rmtA*, *rmtB*, *rmtC* és *rmtD* gének által kódolt, 16S rRNS metiláló enzimek terjedése, mely teljes keresztrezisztenciát okoz az aminoglikozidokkal szemben [44]. A fluorokinolonokkal szembeni rezisztencia kialakulásáért elsősorban endogén mechanizmusok, a giráz és topoizomeráz IV. génekben történő mutációk (*gyrA*, *parC*), illetve effluxpumpák (pl. AdeABC, AdeM) felelősek [51]. Mint számos más multidrog-rezisztens Gram-negatív kórokozó esetében, az *Acinetobacter* fajok okozta fertőzéseknel is előtérbe kerültek a terápiában a polymixinek, melyekkel szembeni rezisztencia ritka [52].

Az ECDC jelentése alapján a 2016-ban az európai országokban megvizsgált *Acinetobacter* spp. törzsek több, mint fele (55,4%) rezisztens volt legalább egy antibiotikum-csoporttal szemben [36]. A rezisztens törzsek 39%-a ellenállónak bizonyult a fluorokinolonokkal, 35,2%-a az aminoglikozidokkal és 35,1%-a a karbapenemekkel szemben. A leggyakoribb fenotípus a három antibiotikum-csoporttal (fluorokinolonok, aminoglikozidok, karbapenemek) szembeni kombinált rezisztencia volt (78,1%) [36]. Az antibiotikumok fogyasztásának mértéke és ezzel összefüggésben az adott antibiotikummal szemben rezisztens törzsek aránya dél, illetve kelet felé nő Európában (3. ábra). Az utolsó terápiás lehetőségként alkalmazható colistin szemben a megvizsgált *Acinetobacter* spp. törzsek 4%-a volt rezisztens [36]. Az összes colistin-rezisztens izolátum 70,7%-át Görögországban és Olaszországban izolálták. Az ECDC jelentése alapján a colistin-rezisztenciával kapcsolatos eredmények a vizsgálat

kivitelezésének nehézségei, a megvizsgált törzsek alacsony száma és az említett mediterrán országok felülreprezentációja miatt körültekintéssel kezelendők [36].



3. ábra: Különböző antibiotikum-csoportokkal szemben rezisztens *Acinetobacter* spp. törzsek aránya Európában [50]

Magyarországon a fluorokinolonokkal (68%), aminoglikozidokkal (59,1%), karbapenemekkel (58,6%) szemben rezisztens *Acinetobacter* spp. törzsek előfordulási aránya az európai átlagnál magasabb, de ugyanakkor a kombinált-rezisztencia

előfordulása (52,4%) alacsonyabb mértékű [50]. A karbapenem- és a kombinált-rezisztencia aránya szignifikáns emelkedést mutatott 2013. és 2016. között (3. ábra) [36]. A nozokomiális fertőzéseket okozó multidrog-rezisztens *Acinetobacter* spp. törzsek 10 000 kibocsátott betegre vonatkozó incidencia értékei az elmúlt években folyamatos növekedést mutattak (2014: 3,9; 2015: 4,2; 2016: 4,4) [16].

Az elhúzódó kórházi fertőzések hátterében általában kisszámú *A. baumannii* klón áll. Az európai országokban elvégzett molekuláris epidemiológiai vizsgálatok eredményei alapján a kontinensen három epidémiás klón elterjedése igazolható: Európai klón I (EU I), Európai klón II (EU II) és Európai klón III (EU III) [52, 56]. Az újabban használt MLST vizsgálati eredményeik igazolták, hogy a korábban EU I, EU II és EU III-ként meghatározott epidémiás klónok megfeleltethetőek a nemzetközi CC1, CC2 és CC3 klonális komplexeknek, melyek más kontinenseken is jelen vannak [57].

A Magyarországon 2005. és 2010. között izolált, járványokat okozó *A. baumannii* törzsek többsége az EU I klónba (CC1 komplexbe) tartozott, melyen belül öt PFGE-típus került azonosításra (AC001, AC002, AC010, AC011, AC020). Reprezentáns izolátumok vizsgálata alapján a karbapenem rezisztens *A. baumannii* törzsek mindegyike OXA-típusú karbapenemáz gént hordozott, melyek között a leggyakoribb a *bla*_{OXA-23} volt. A 2010. és 2015. között beküldött izolátumok tipizálási adatai viszont már az EU-II virulens klón folyamatosan növekvő gyakoriságát mutatták (jellemző PFGE-típusok: AC020, AC033, AC077, AC091, AC085) [58]. Az utóbbi néhány évben Magyarországon elterjedt egy új, OXA-72 karbapenemázt hordozó, sporadikus ST636 szekvencia típus [59].

3.2.3 *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* törzsek 0,5-1,0 µm körüli, Gram-pozitív, gömb alakú baktériumok. Mikroszkópos képük szilárd táptalajról izolálva szabálytalan, szőlőfürtszerű csoportokat alkot, erre utal a baktérium neve is. A *Staphylococcus* kifejezés a görög „staphylos”, vagyis szőlő és „kokkos” szemcse, bab szavakból származik. Klinikai mintákból izolálva önállóan vagy párosával elhelyezkedő coccusokat, rövid láncokat mutat [60]. A fajt 1882-ben írta le először egy görög kutató, Sir Alexander Ogston [61]. Opportunista patogén, a normál baktériumflóra tagja, megtalálható az egészséges emberek, illetve a melegvérű állatok bőrén, orrüregében és egyéb nyálkahártyáin. Az emberek körülbelül 30%-a hordoz *S. aureus* törzseket az

orrüregében, ami növelheti a fertőzés kialakulásának valószínűségét [62]. A kórokozó optimális növekedési hőmérséklete 37 °C, de 10 °C és 42 °C között is képes szaporodni. A *S. aureus* jól tűri a hiperozmotikus körülményeket, akár 7-10%-os NaCl koncentráció mellett is képes szaporodni. A biofilmképző törzsek különösen ellenállóak lehetnek a kiszáradással és a fertőtlenítőszerrel szemben is [63].

A *S. aureus* a leggyakoribb kórokozók közé tartozik mind az egészségügyi ellátás során, mind a közösségben szerzett fertőzések esetében [60]. Okozhat lokális, gennyes gyulladásokat a bőr felszínén (szórtüszőgyulladás, ótvár, forrázott bőr szindróma, kelés, karbunkulus stb.), akut és krónikus ízületi-, csonthártya- és csontvelőgyulladásokat, illetve véráramfertőzést, szívbélhártya-, szívizom- és agyhártyagyulladás, agyi tályogokat stb. [64]. Gyakori oka az influenzás megbetegedés során vagy nyál, étel félrenyelése miatt kialakuló tüdőgyulladásoknak. A *S. aureus* számos virulenciafaktora (pl. adhezinek, protein-A, koagulázok stb.) mellett toxinokat is termelhet, köztük a súlyos, életveszélyes állapotot is okozó toxikus-sokk-szindróma toxint.

A vad-típusú *S. aureus* törzsek érzékenyek az összes aerob, Gram-pozitív baktérium elleni antibiotikum-csoporttal szemben, azonban széleskörű, szerzett antibiotikum-rezisztenciával rendelkezhetnek. Az első penicillinnel szemben rezisztens *S. aureus* törzset, 1942-ben, alig egy évvel a „csodagyógyszer” bevezetése után írták le [65]. A rezisztencia kialakításáért egy, a penicillint bontó penicillináz enzim termelése volt felelős [66]. A penicillin-rezisztens törzsek kezelésére 1959-ben bevezetett β -laktám-stabil methicillinnel szemben is rezisztens első MRSA izolátumot 1961-ben írták le [67]. Ezzel megkezdődött az MRSA törzsek globális elterjedése. Azóta az MRSA törzsek a MDRB által okozott nozokomiális fertőzések egyik legfontosabb okozói [15, 18]. Az MRSA izolátumok rezisztensek minden fajta β -laktám antibiotikummal szemben (az 5. generációs anti-MRSA cefalosporinok kivételével). A rezisztencia hátterében a koaguláz-negatív *Staphylococcus* fajoktól horizontális géntranszferen keresztül szerzett *mecA*, illetve a 2011-ben leírt *mecC* gének állnak [68, 69]. A *mecA* gén egy nagy mozgékonyságú kromoszómális szakaszon, az SCC*mec* kazettán (staphylococcal cassette chromosome *mec*) helyezkedik el, és egy olyan penicillin-kötő fehérjét (PBP2a) kódol, amelyhez csak nagyon kis affinitással tudnak kötődni a β -laktám antibiotikumok, így a baktérium sejtfal-szintézise zavartalan [60]. Az SCC*mec* kazetta 11 típusát különböztetjük meg [70]. A *mecC* gén, mely 70%-ban homológ a *mecA*-val szintén methicillin-rezisztenciát biztosít. Ugyan, csak 2011-ben azonosították,

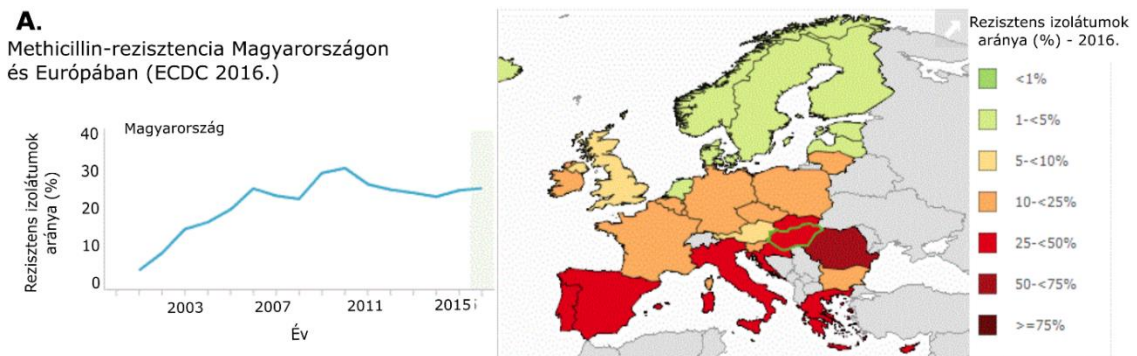
a törzsbanki vizsgálatok alapján a *mecC* gén már legalább 1975 óta jelen van a *S. aureus* törzsekben. A rezisztencia mechanizmusa hasonló a *mecA* généhez, bár a gének termostabilitása, illetve az egyes antibiotikumokhoz való affinitása különbözik [71]. Az MRSA baktériumok ellen kifejlesztett anti-MRSA cefalosporinok (pl. ceftobripole) [72] nagy affinitással képesek kötődni a *mecA* gén által kódolt PBP2a fehérjékhez is, de *in vitro* kísérletekben már megjelentek a velük szemben is rezisztens izolátumok [73].

A fehérjeszintézist gátló aminoglikozidokkal szemben kétféle rezisztenciamechanizmus jellemző *S. aureus* izolátumokra, az antibiotikum enzimatisz modifikációja és az antibiotikum molekulák sejtbe történő bejutásának akadályozása. A gentamicin-rezisztens *S. aureus* törzsek egy bifunkcionális modifikáló enzimet termelnek (AAC(6')/APH(2')), melynek foszfortranszferáz és acetiltranszferáz aktivitása is van. Az elégtelen aminoglikozid felvétel az elektrontranszportért felelős fehérjékkel, illetve az ATP-áz aktivitással hozható összefüggésbe [74, 75].

A glikopeptidek baktericid hatású, sejtfaleszintézist gátló antibiotikumok, melyek viszonylag szűk hatásspektrummal rendelkeznek, csak Gram-pozitív kórokozók ellen hatékonyak. Az MRSA törzsek kezelésére általában a vankomicint alkalmazzák, melyet a *Streptomyces orientalis* anyagcseretermékéből 1956-ban állították elő [76]. A vankomicin oto- és nefrotoxikus hatású lehet, ezért hosszú távú alkalmazása esetén a szérumszint ellenőrzésére van szükség. A vankomicinnel és teikoplaninnal szembeni mérsékelt rezisztencia háttérében többféle endogén mutáció is állhat [77]. Ilyen például a sejtfales felépítésének megváltozása (a terminális pentapeptidek számának növekedése, a peptidoglikán-réteg megvastagodása, a peptidoglikán-rétegben kialakuló keresztkötések számának csökkenése vagy fals antibiotikum-kötőhelyek megjelenése). A megnövekedett biofilmképző képesség vagy a csökkent autolízis is okozhat alacsony szintű rezisztenciát [78, 79]. A glikopeptidekkel szemben csökkent érzékenységű törzseket az angol nyelvű elnevezés alapján vancomycin-intermediate *S. aureus*nak (VISA) vagy glycopeptide-intermediate *S. aureus*nak (GISA) hívják. Ha a baktérium populációnak csak egy része rendelkezik a fentebb leírt mechanizmusokkal, akkor hetero-GISA törzsnek nevezik. Magyarországon az első hetero-GISA törzset 2008-ban írták le [80]. A mérsékelt érzékenység mellett magas szintű glikopeptid-rezisztenciát (vankomicin/glikopeptid-rezisztens *S. aureus* – VRSA/GRSA) is mutathat a baktérium, melynek háttérében az *Enterococcus* csoportoktól konjugáció révén szerzett *vanA* gén

áll [81]. A GRSA izolátumok széleskörű, klinikai elterjedését akadályozza, hogy a *vanA* gén hordozása nagymértékben csökkenti a baktérium fitneszét [82].

Az ECDC adatai alapján a 2016-ban, Európában izolált *S. aureus* törzsek 13,7%-a volt methicillin-rezisztens [36]. A felmérésben résztvevő országok között jelentős különbségek tapasztalhatók: Hollandiában és Norvégiában 1,2%, Görögországban 38,8%, Portugáliában 43,6% míg Romániában 50,5% a methicillin-rezisztens törzsek aránya (4. ábra). 2013. és 2016. között a felmérésben résztvevő európai államok több mint harmadában szignifikánsan csökkent a rezisztens törzsek előfordulása. Egyetlen országban, Spanyolországban szignifikánsan növekvő trend volt megfigyelhető [36]. Az ECDC adatok alapján, 2016-ban, a megvizsgált MRSA izolátumok között a methicillin és fluorokinolon kombinált-rezisztencia (55%) volt a leggyakoribb fenotípus Európában [36].



4. ábra: Methicillinnel szemben rezisztens *S. aureus* törzsek aránya Európában [50]

Hazánkban az ECDC adatai alapján az MRSA törzsek aránya nem változott szignifikánsan (2013: 24,0%; 2016: 25,2%) [50]. A nozokomiális fertőzéseket okozó MRSA törzsek 10 000 kibocsájtott betegre vonatkozó incidencia értékei kis mértékű növekedést mutattak az elmúlt években (2014: 5,1; 2015: 4,9; 2016: 5,4) [16].

Az MRSA törzsek a molekuláris epidemiológiai vizsgálatok alapján nem alkotnak homogén csoportot. Több egészségügyi szempontból jelentős MRSA csoport is kialakult epidemiológiailag sikeres MSSA törzsekből a *mecA* vagy *mecC* gént tartalmazó SCC*mec* kazetták egymástól független felvételével [60, 83]. Az MRSA törzseket három nagy csoportba soroljuk: (i.) nozokomiális fertőzéseket okozó, healthcare-associated MRSA (HA-MRSA), (ii.) az 1980-as évek végén megjelent, kórházi ellátó rendszeren kívül, közösségben fertőzéseket okozó community-associated MRSA (CA-MRSA), illetve (iii.) a 2005 óta emberi fertőzéseket is okozó, de elsősorban az állattenyésztéshez kapcsolódó, livestock-associated MRSA (LA-MRSA) [83]. A CA-

MRSA törzsek általában az antibiotikumok szűkebb spektrumával szemben rendelkeznek rezisztenciával [18]. Az utóbbi években azonban a CA-MRSA izolátumok egyre többféle antibiotikum-rezisztenciamechanizmust halmoznak fel, és már megjelentek az egészségügyi intézmények falain belül is. Így a különbség a HA- és CA-MRSA izolátumok között fokozatosan csökken [83]. Egyes magyarországi CC398-as LA-MRSA törzsekben is sikerült azonosítani olyan géneket (a human immune evasion cluster részeként), melyek az első evolúciós lépéseket jelenthetik az emberi szervezethez való alkalmazkodásban [84].

Az MRSA csoportokat földrészenként különböző, sikeresen adaptálódott MLST típusok képviselik [83]. A HA-MRSA törzsek közül az ST22 és ST36 Európában, az ST239 Ázsiában és Ausztráliában, az ST5 Észak-Amerikában, Japánban és Koreában elterjedt. Az ST22 MLST típusba tartozik az EMRSA-15 néven hivatkozott klón, mely a világon és hazánkban is az egyik legelterjedtebb HA-MRSA típus. Az EMRSA-15 klónt 1991-ben írták le Angliában. Azóta számos más, korábban sikeres HA-MRSA klónt szorított ki az egészségügyi intézményekből például Nagy-Britanniában, Szingapúrban, Ausztráliában és Portugáliában. Az EMRSA-15 sikerének egyik oka az SCC_{mec-IV} kazetta, mely nemcsak számos rezisztenciamechanizmust hordozhat, de fitneszköltsége is igen alacsony [83]. Ugyancsak kiemelkedő epidemiológiai jelentőséggel bír a New York/Japán klón (ST5-II, CC5), az Ibériai-klón (ST247-I.A, CC8), az EMRSA-16/USA200 klón (ST36-II, CC30), illetve a Berlin MRSA/USA600 klón (ST45-IV, CC45) is.

A CA-MRSA törzsek Európában és Észak-Amerikában főként az ST80, a Távol-Keleten az ST59, Ausztriában az ST93 és ST1, az USA-ban az ST1 és ST8 MLST típusba tartoznak. Az LA-MRSA fertőzések zömét Európában az ST398, Ázsiában az ST9 MLST típusba tartozó izolátumok okozzák [83].

Hazánkban a HA-MRSA törzsek 45%-a az EMRSA-15 (ST22-IV) klónhoz, 23,9%-a a New York/Japán (ST5-II) klónba tartozott 2015-ben [58]. Az invazív fertőzésekből izolált kórokozóknál még magasabb ennek a két klónnak a dominanciája (EMRSA-15: 56,2%; New York/Japán klón: 34,5%). A közösségben terjedő CA-MRSA törzsek molekuláris tipizálási eredményei az USA-ban gyakori, de világszerte elterjedt ST8-IV és az Európában domináns ST80-IV klónok hazai elterjedését mutatják (nem publikált adat, szóbeli közlés: Tóth Ákos, OKI, 2018.). Az első LA-MRSA-t hazánkban először 2009-ben detektálták humán mintából. Azóta az OKI referencia laboratóriuma 79

CC398-as LA-MRSA törzset azonosított (nem publikált adat, szóbeli közlés: Tóth Ákos, OKI, 2018.).

3.2.4 *Enterococcus faecium*

Az *Enterococcus faecium* fakultatív anaerob, Gram-pozitív coccus, a tojásdad alakú sejtek magányosan, párban vagy rövid láncokban is elhelyezkedhetnek [19]. A baktérium sok helyen megtalálható a természetben, például a talajban, természetes vizekben és élelmiszerekben (pl. sajtok, halak, kolbászok, darált sertés- és marhahús) [85, 86]. Az *E. faecium* opportunistá patogén, a normál humán mikrobióta tagja, nagy számban él az emberi bélrendszerben, de előfordulhat az epehólyagban, a szájüregben és a húgyivarszervekben is. Optimális növekedési hőmérséklete 35-37 °C, de a legtöbb törzs képes szaporodni 5 °C és 50 °C közötti hőmérsékleten. Az *E. faecium* rendkívül ellenálló, képes túlélni 30 percig tartó, 60 °C-os hőkezelést, extrém pH értékeket (pH 4,5-10), de jól tűri a kiszáradást, illetve nagy koncentrációjú sók (pl. 6,5% NaCl), fémek és fertőtlenítőszer (pl. klór, glutáraldehid, alkohol) jelenlétét [19, 87]. Ezek a tulajdonságok elősegítik az *E. faecium* törzsek túlélését és elterjedését az egészségügyi intézményekben. Az *Enterococcus* fajokat hosszú ideig ártalmatlannak tartották klinikai szempontból, az általuk termelt bakteriocineket az élelmiszeriparban is nagy mennyiségben alkalmazták [19]. Európában az 1990-es évek közepe óta okoznak egyre növekvő számban nozokomiális fertőzéseket [87]. Az *E. faecium* baktériumok leggyakrabban húgyúti-, műtéti seb- és véráramfertőzéseket, hepatobiliáris és neonatális szepszist, szívbelhártya- és hashártya-gyulladást, illetve hasüregi tályogokat okoznak [36, 88, 89].

Az *E. faecium* törzsek széleskörű természetes antibiotikum-rezisztenciával rendelkeznek. Csökkent érzékenységet mutatnak aminopenicillinekkal, cefalosporinokkal, sztreptograminokkal, szulfonamidokkal, aminoglikozidokkal (kivéve sztreptomycin és gentamicin) szemben. A cefalosporin antibiotikumokkal szembeni rezisztencia oka a célmolekulákban keresendő: kis affinitású PBP5 molekulák termelése [27]. Az aminoglikozidok hatását csökkenti az antibiotikumok sejt falon keresztüli penetrációjának elégtelensége, a célmolekulák módosítása (az *efmM* gén által kódolt metiltranszferáz enzim a bakteriális riboszóma metilációjával gátolja az aminoglikozidok megkötődését [27]), illetve az antibiotikumot hidrolizáló enzimek termelése (pl. a kromoszómális *aac(6')-II* gén) [87]. Mindezek következtében már a vad-típusú törzsek esetében is kombinált antibiotikum terápiára (pl. β -laktámok és

gentamicin, melyek szinergizmust mutatnak) van szükség. A fehérjeszintézist gátló sztreptograminokkal (quinupristin-dalfopristin) szembeni megnövekedett minimális gátló koncentráció értékek (Minimum Inhibitory Concentration – MIC értékek) az *msrC* gén által kódolt ABC-effluxpumpának köszönhetőek [90]. A folsavsintézist gátló szulfonamidok és trimethoprim sem hatásosak az *E. faecium* izolátumok ellen, mivel ezek a baktériumok képesek folsavat felvenni a környezetből [27].

Az *E. faecium*ok szerzett antibiotikum-rezisztenciái kromoszómális mutációk vagy horizontális géntranszfer eredményei [87]. Szerzett rezisztenciái közül az aminopenicillinekkal, aminoglikozidokkal és glikopeptidekkel szembeni magas szintű rezisztencia okoz komoly terápiás nehézségeket. Az *E. faecium* törzsek egyéb antibiotikum-csoportokkal (pl. linezolid, tigecklin, kinolonok) szemben is rendelkezhetnek szerzett rezisztenciamechanizmusokkal [27, 91, 92].

Magas szintű β -laktám-rezisztencia kialakulásának leggyakoribb mechanizmusa az *E. faecium* törzsek esetében a penicillin-kötő fehérjék (PBP5) megváltozása pontmutációk révén [93]. A megváltozott *pbp5* gének kromoszómáról kromoszómára való horizontális terjedését sikerült dokumentálni *in vitro* kísérletekben, a mechanizmusnak szerepe lehet a magas szintű ampicillin-rezisztencia terjedésében [94].

Az *E. faecium* törzsek rendelkezhetnek magas szintű aminoglikozid-rezisztenciával is, ami azt jelentheti, hogy az aminoglikozidok kombinált terápiában is hatástalanná válnak [27]. Klinikai szempontból a legfontosabb a gentamicin- és sztreptomycin-rezisztencia. Több mechanizmus is felelős lehet a gentamicin-rezisztencia terjedésért. Az egyik legfontosabb a horizontálisan terjedő *aph(2'')-Ia-aac(6')-Ie* gén által termelt enzim, mely foszforiláció és acetiláció révén inaktiválja az aminoglikozidokat a sztreptomycin kivételével [95]. Egyéb gének pl. *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id* és *aph(2'')-Ib* kisebb mértékű MIC emelkedést okoznak, de az is elegendő lehet a kombinált antibiotikumterápia sikertelenségéhez [95]. Magas szintű sztreptomycin-rezisztencia az antibiotikum inaktiválása (Ant(6'')-Ia és Ant(3'')-Ia enzimek), illetve a célmolekula, a bakteriális riboszóma mutációja miatti affinitáscsökkenés következtében is kialakulhat [95].

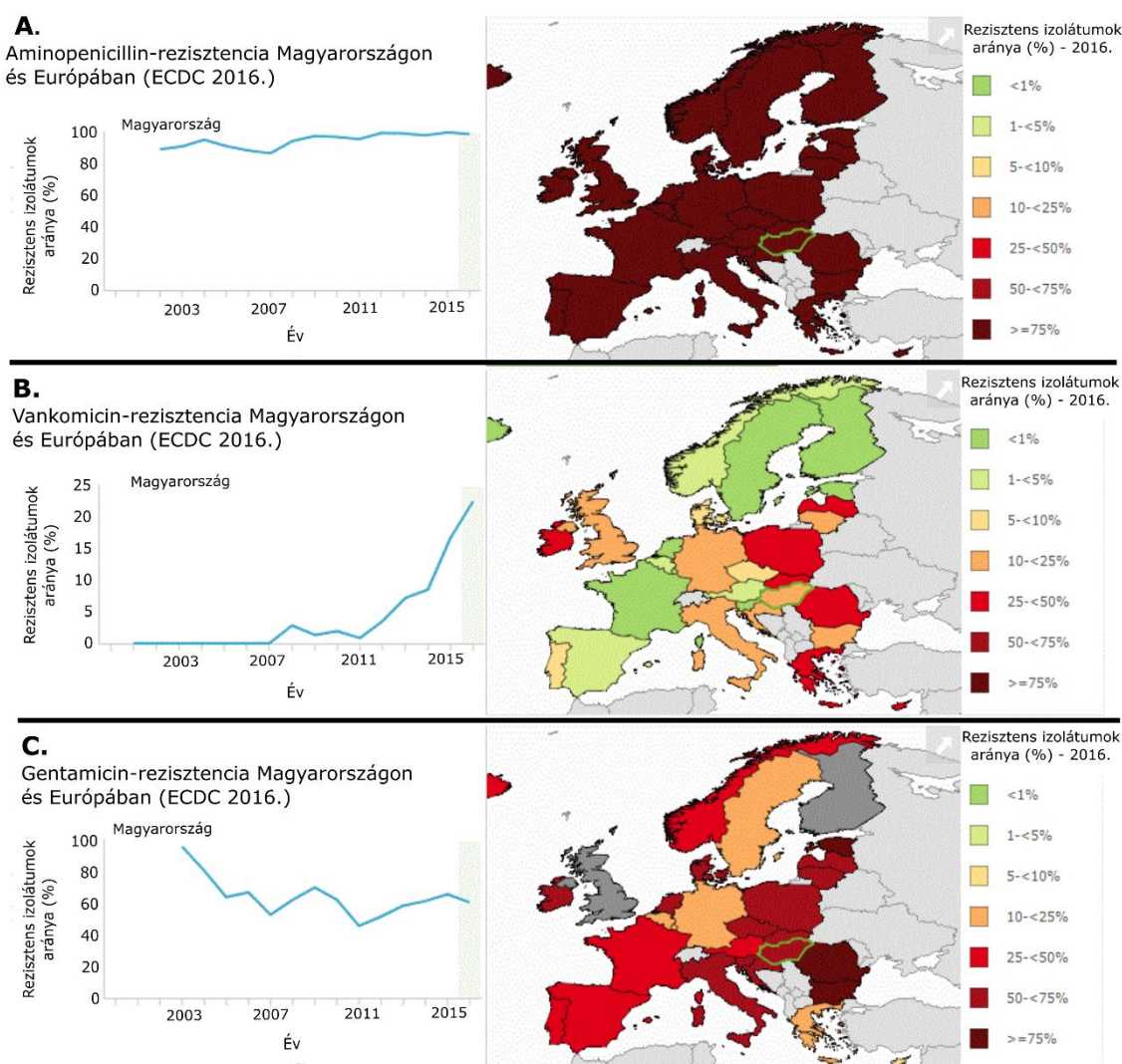
A sejtfalszintézist gátló glikopeptideket a MRSA, valamint az ampicillin/gentamicin rezisztenciával rendelkező *Enterococcus* spp. izolátumok okozta fertőzések kezelése során alkalmazzák. Vankomicin-rezisztens *Enterococcus* spp. (VRE) törzseket 1988-ban írtak le először [96]. A rezisztens *Enterococcus* fajok kórházi környezetben való

elterjedéséért a genomjuk flexibilitása és az antibiotikumok egészségügyben és állattartásban való széleskörű használata lehet felelős. A VRE törzsek az 1990-es években az állattenyésztésben terjedtek el először Európában, egy hozamnövelő glikopeptid származék, az avoparcin használatának következtében [92]. Bebizonyosodott, hogy az állatok által hordozott törzsek vankomicin-rezisztencia génjei a transzpozonok hasonlósága miatt átjuthatnak az emberi szervezetet kolonizáló *Enterococcus* spp. törzsekbe is. Ennek következtében 1997-ben be is tiltották az avoparcin használatát Európában, csökkentve a haszonállatok VRE hordozását [92]. Az utóbbi években a VRE törzsek kórházi környezetben történő elterjedését elősegítette a *Clostridium difficile* fertőzések számának növekedése, és az azok kezelése során alkalmazott vankomicin szelektív nyomása is [97, 98]. A vankomicin-rezisztenciát a *van* operonok jelenléte okozza [27], melyek a sejtfal alternatív bioszintéziséért felelős géneket tartalmaznak. Az operonok típusait a rajtuk található ligáz kódoló gének alapján határozzák meg, kilencféle izotípust megkülönböztetve (*vanA-vanN*) [27]. Klinikai jelentőséggel a *vanA* és *vanB* operonok bírnak. A két operon működési elve azonos, a sejtfalszintézis során keletkező pentapeptid prekursor utolsó aminosavának cseréje révén (alanin -> laktát) csökkentik az antibiotikumok affinitását [99]. Mindkét operon működése indukálható vankomicinnel, így vankomicin-rezisztenciát biztosítva. A *vanA* operon a vankomicin mellett teikoplanin használatával is indukálható, így a *vanA* pozitív izolátumok mindkét antibiotikummal szemben rezisztensek.

Hazánkban első ízben Füzi és mtsai. azonosítottak fenotípusos módszerekkel VRE izolátumokat [100]. Az első bejelentett, egészségügyi ellátással kapcsolatos VRE okozta járvány 2004 áprilisa és szeptembere között zajlott egy budapesti kórház hematológiai és őssejt transzplantációs osztályán [101, 102]. A VRE izolátumok száma az elmúlt években folyamatosan, egyre gyorsuló mértékben emelkedik Magyarországon [58]. A VRE populáción belül a törzsek túlnyomó többsége (65-85%-a) *vanA* operont hordozott [58], de 2017-től a *vanB* génnel rendelkező izolátumok aránya kifejezett emelkedést mutat (nem publikált adat, szóbeli közlés: Tóth Ákos, OKI, 2018.). Európában és az USA-ban hasonló trend figyelhető meg, ugyanakkor Ausztráliában és Új-Zélandon a *vanB* operon jelenléte gyakoribb. Az elmúlt években egy új klón, a *vanB* operont hordozó ST796 okozott járványokat Ausztráliában [103].

Az ECDC adatai alapján, 2016-ban, az Európai országokban az *E. faecium* törzsek 11,8%-a volt vankomicin-rezisztens [36]. A felmérésben résztvevő országok között

jelentős különbségek tapasztalhatók: Észt-, Finnországban, illetve Szlovéniában 0%, ugyanakkor Romániában 39%, Írországban 44,1% és Cipruson 46,3% a VRE törzsek aránya [36]. 2013 és 2016 között összességében nem változott szignifikánsan a VRE törzsek gyakorisága Európában. Míg Portugáliában és az Egyesült Királyságban szignifikánsan csökkenő, addig másik hét országban, köztük Magyarországon szignifikánsan növekvő trend volt megfigyelhető. Hazánkban az ECDC-nek jelentett adatok alapján a vankomicin-rezisztens *E. faecium* törzsek aránya több, mint a háromszorosára emelkedett négy év alatt (2013: 7,1%; 2016: 22,4%) (5. ábra).



5. ábra: Különböző antibiotikum-csoportokkal szemben rezisztens *E. faecium* törzsek aránya Európában [50]

Az aminopenicillinekkel szembeni rezisztencia mértéke 2003 óta mind Magyarországon, mind Európában 100% közelében ingadozik (5. ábra) [50]. A kombinált antibiotikum terápiában fontos gentamicinnel szemben hazánkban 2005 óta 60% körüli a rezisztencia előfordulási aránya [50]. A nozokomiális fertőzéseket okozó

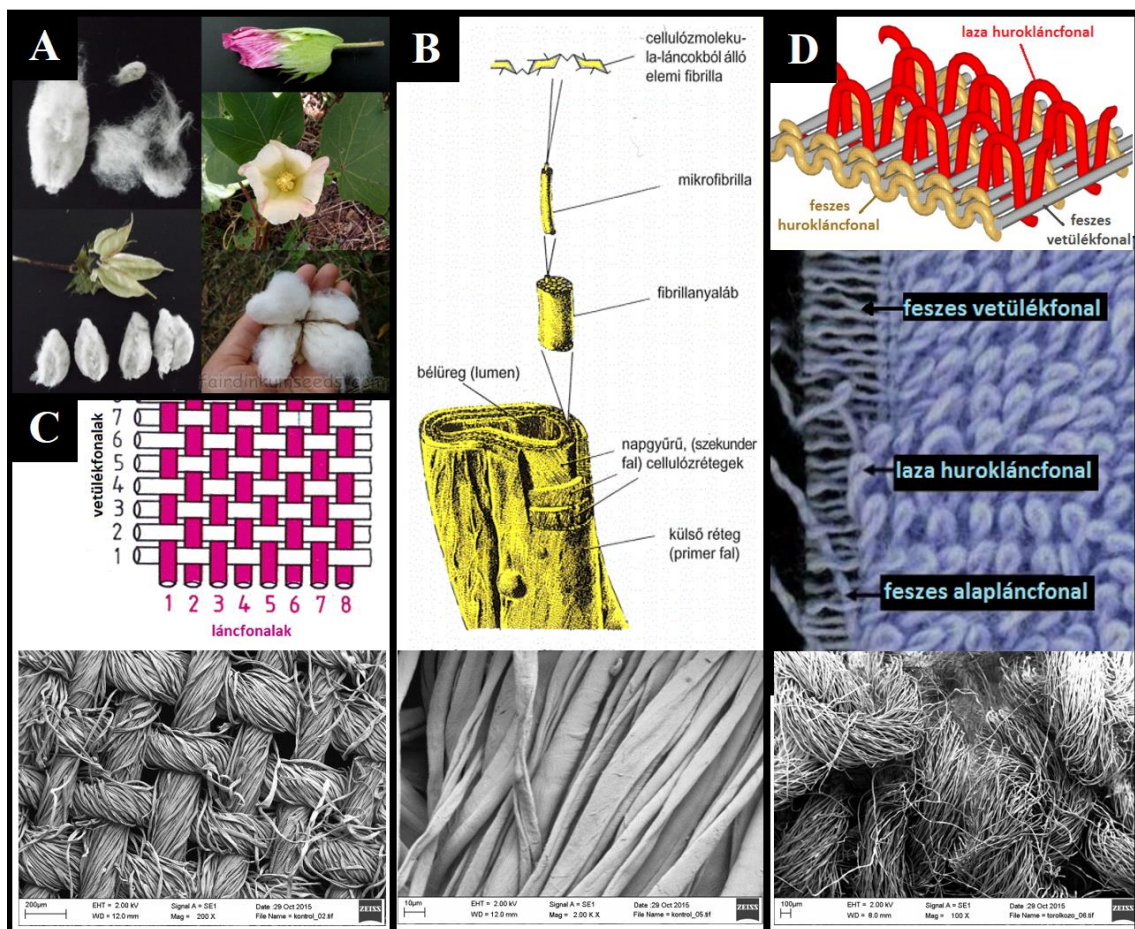
VRE törzsek 10 000 kibocsátott betegre vonatkozó incidencia értékei az elmúlt években folyamatos növekedést mutattak (2014: 0,5; 2015: 0,6; 2016: 1,0) [16].

A bakteriális genomok analízise alapján az *E. faecium* törzsek két nagy csoportba (klád-A és klád-B) sorolhatók [92]. Az eredeti felosztás szerint a klád-B csoport törzsei egészséges emberek és állatok bélflórájából származnak [104], de ezt újabb vizsgálatok megkérdőjelezték, melyek során a klád-B csoporthoz tartozó klinikai izolátumokat azonosították [105]. A két, genetikailag jól elkülönülő csoport tehát nem társítható egyértelműen a törzs izolálási helyéhez. Ugyanakkor a klád-A és klád-B tagjai eltérő fitnessszel rendelkeznek. Antibiotikumok hiányában a klád-B törzsek nagyobb növekedési képességük révén kiszorítják a klád-A csoport tagjait. A klád-A tehát kifejezetten antibiotikumokkal terhelt környezethez alkalmazkodott [92]. A klád-A további két csoportra bontható. A klád-A1 nozokomiális fertőzésekben szenvedő emberekre jellemző, a klád-A2 pedig elsősorban állatfarmokon (sertés, szárnyas) fordul elő, ahol az antibiotikumokat, mint hozamnövelő szereket alkalmazzák. A klád-A1 és klád-A2 szétválása nagyjából 76 ± 30 éve történhetett, tehát körülbelül az antibiotikumok széleskörű használatának bevezetésekor. A legújabb eredmények azonban megkérdőjelezzik a klád-A1 és klád-A2 szétválasztásának létjogosultságát is [105].

A klád-A1 csoportra CC17 klonális komplexként is hivatkoznak, mely MLST vizsgálatok alapján meghatározott csoport [106]. A klád-A1 vagy CC17 csoport tagjaira jellemző az ampicillin- és fluorokinolon-rezisztencia [87], a spontán mutációk gyakoribb előfordulása (klád-A2, illetve klád-B csoporthoz képest), és a nagyobb bakteriális genom, melynek háttérében mobilis genetikai elemek, patogénitási szigetek (virulencia-, rezisztencia-, membrán protein stb. gének) állnak [106]. A nozokomiális fertőzések szempontjából jelentős *E. faecium* törzsek a CC17-be tartoznak, amely a legelterjedtebb, magas virulenciájú *E. faecium* leszármazási vonal a világon. A CC17 az ST17-es szekvencia típusú törzsekből alakult ki, többlépéses folyamat (genetikai kapitalizmus, azaz a gazdagok egyre gazdagabbá válnak [107]) során alkalmazkodva a kórházi környezethez. Az első lépés az ampicillin-rezisztencia megszerzése volt, amit egyéb adaptív elemek felvétele követett (rezisztencia- és virulencia-gének). Mindezek eredményeképpen az ST17-es *E. faecium* törzsek szelekciós előnyhöz jutottak a kórházi környezetben, ami globális elterjedésükhöz vezetett [87].

3.3 Pamut és poliészter szövetek

A textilipar nyersanyagai származhatnak a természetből (természetes szálak), vagy előállíthatók vegyi úton (szintetikus szálak) [108]. Kiemelt jelentőségű, növényi eredetű, természetes alapanyag a cellulóz, mely származhat magszálakból (pl. gyapot), hancsrostokból (pl. len, kender), szerkezeti rostokból (pl. ananász, agave, szizál), gyümölcsrostokból (pl. kókusz). A gyapot (*Gossypium* sp.) az emberiség egyik legrégebben termesztett növénye, napjainkban Kína, India és az Amerikai Egyesült Államok a legnagyobb gyapottermelő országok a világon [109]. A gyapot cellulóztartalmú magzálaiból állítják elő a pamutot (6. ábra A).



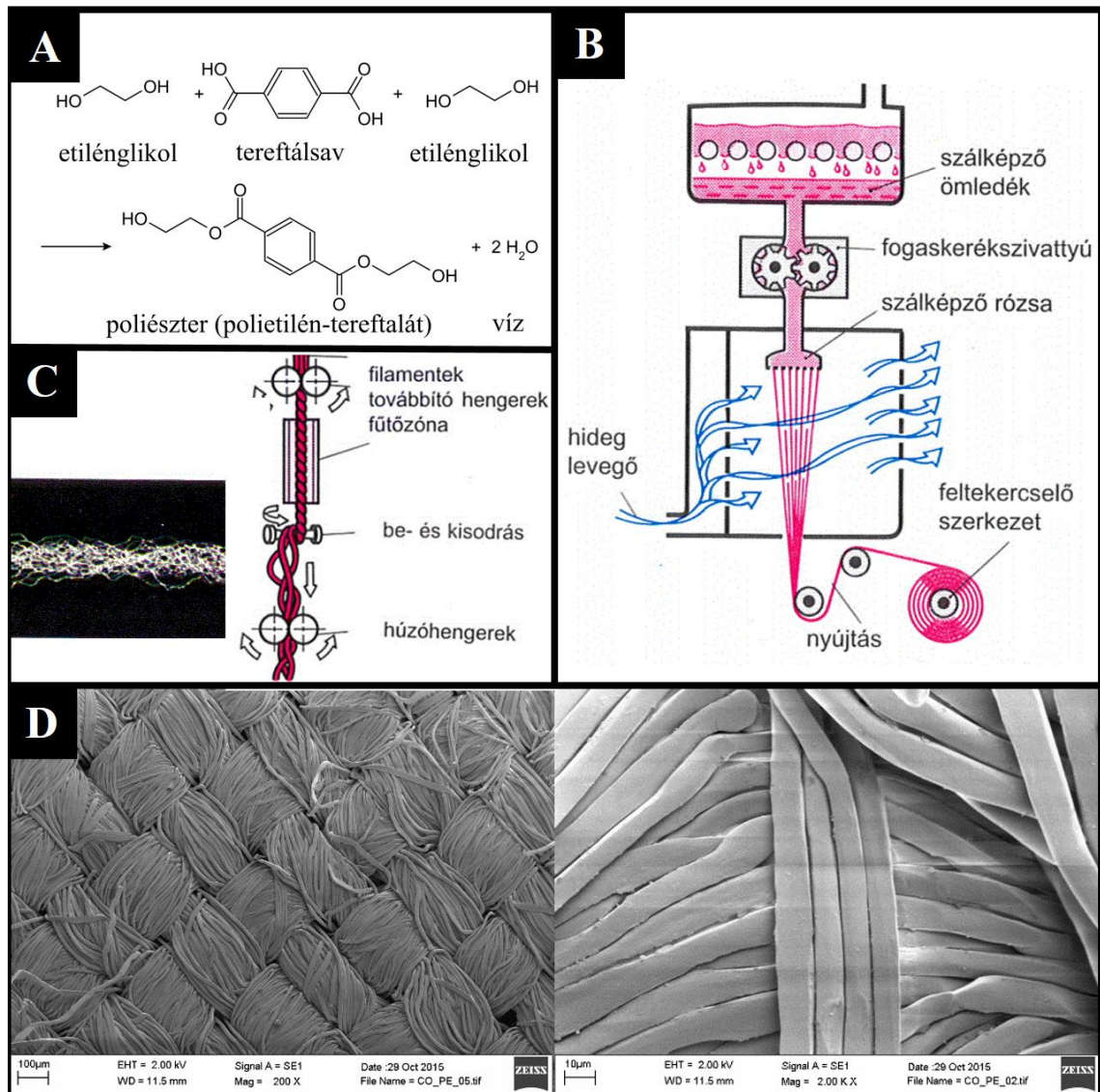
6. ábra: Gyapot növény és pamut szövetek. A pásztázó elektronmikroszkópos képeket (SEM) Dr. Szabó László készítette (MTA TTK, Zeiss EVO 40). A: Gyapot növény és az érett magszálak [108], B: Gyapot magszál felépítése [108] és SEM képe (2000x), C: Vászongötés rajza [108] és SEM képe (200x), D: Frottír törölköző kötésének rajza (kép forrása: www.slideshare.net/kvsingh83/weaving-6963794), fényképe (kép forrása: <https://www.slideshare.net/mystyle4u/fancy-weaves>) és SEM képe (100x).

A kézzel vagy géppel betakarított gyapotot kiszárítják, egrenálják, azaz a 15-50 mm hosszúságú magszálakat eltávolítják a magokról. A kiszáradt magszálak vese/bab keresztmetszetűek, a hosszanti tengelyük mentén csavarodottak, és ~96%-ban cellulózból épülnek fel (6. ábra B). A cellulóz $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidos kötéssel kapcsolódó D-glükóz monomerekből felépülő makromolekula. A cellulóz molekulákat inter- és intramolekuláris hidrogénkötések, illetve van der Waals erők kapcsolják össze [108].

A magszálakból összesodrás (fonás) révén pamut fonalat állítanak elő. A fonalakkól szövés révén, két fonalrendszer (lánc- és vetülékfonalak) merőleges keresztezésével szöveteket készítenek [108]. A szövet előállításánál során a láncfonalak hosszanti irányban, a vetülékfonalak keresztirányban futnak. A pamutfonalból előállított pamutszövet bőrbarát, nedvszívó, természetes anyag, kellemes viselet. Nagy ellenálló képessége miatt jól mosható, ugyanakkor rugalmassága csekély, vasalást igényel. A pamut felhasználása igen sokrétű, készítenek belőle ruházati textíliákat (pl. alsó-, felső-, szabadidő-, sport-, és munkaruházat), lakástextíliákat (pl. háztartási és dekorációs anyagok, bútorhuzatok) és műszaki textíliákat (pl.: munka és védőruházat) egyaránt. A pamut az egészségügyi textíliáknak, például a kórházi lepedőknek vagy törölközőknek is kedvelt alapanyaga. A lepedők szövésénél gyakran vászonkötést használnak (6. ábra C), ami a legegyszerűbb és mintegy legszorosabb keresztezése a lánc- és vetülékfonalaknak [108]. A dörzsöléssel szemben ellenálló és formatartó vászonkötés során valamennyi láncfonal felváltva halad a vetülékfonal alatt, illetve felett. A törölközők alapanyagául szolgáló frottír szöveteket (6. ábra D) három fonalrendszer összeszövése révén állítják elő [108]. A feszes alapláncfonalon kívül egy második, laza láncfonalrendszert is használnak, mely szövés közben hurkossá torlódik össze, ezáltal a szövet vastagabbá válik, szakítószilárdsága, nedvszívó képessége fokozódik.

A szintetikus szálak alapanyagát (kisméretű molekulák, monomerek) mesterségesen állítják elő kőolajból. A monomereket hosszú láncmolekulákká, makromolekulákká kapcsolják össze polimerizáció, polikondenzáció vagy poliaddíció révén [108]. A poliésztert (polietilén-tereftalát) etilén-glikol és tereftálsav polikondenzációs reakciója során állítják elő (7. ábra A). A létrejött poliészter granulátumból ömledékes szálképzési eljárás során képeznek „végtelen” hosszúságú (akár több száz méteres, vagy kilométeres), folytonos szálakat, ún. filamenteket (7. ábra B). Nyújtás után a ruházati, háztartási célú textíliákhoz felhasznált egyszerű filamenteket általában terjedelmesítik, illetve vágott szálakká alakítják. A terjedelmesítés során (pl. hamissodró eljárás, 7. ábra

C) a sima filamentfonalakat tartósan hullámosítják, így javul az anyag hőszigetelő, légáteresztő, nedvszívó képessége, illetve lágy tapintásúvá, kellemes viseletűvé válik.



7. ábra: **A:** poliészter (polietilén-tereftalát) polikondenzációjának reakciója (a kép forrása: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Polykondensation_Polyester.svg), **B:** Ömledékes szálképzési eljárás sematikus rajza [108], **C:** Hamissodró eljárás rajza és eredménye [108] **D:** Vászónkötésű 100% poliészter lepedő pászttázó elektronmikroszkópos képei, nagyítás: 200x, 2000x (Dr. Szabó László, MTA TTK, Zeiss EVO 40)

A poliészter szövet nagyfokú fizikai és kémiai ellenálló képességgel rendelkezik. Jellemzői hasonlónak teszik a pamuthoz, de nem gyűrődik és könnyen kezelhető. A vászónkötésű poliészter szöveteket (7. ábra D) felhasználják például lepedők, munkaruhák készítéséhez.

3.4 Élettelen felületek (textíliák) szerepe a kórokozók terjesztésében

Az élettelen felületek MDRB terjesztésében betöltött szerepét a kórokozók, a betegek és a környezet közötti kapcsolat vizsgálatával deríthetjük fel. Számos kutatás támasztja alá, hogy az élettelen felületek (köztük a kórházi textíliák) kontaminálódhatnak kórokozókkal [110-112]. *In vitro* és *in situ* vizsgálatok rámutattak, hogy a betegek körüli élettelen felületek megérintése elegendő az egészségügyi dolgozók, látogatók kezének, kesztyűjének vagy ruhájának akár MDRB-kal való szennyeződéséhez [113-116]. Morgan és mtsai. multidrog-rezisztens baktériumokat, köztük MACI, VRE és MRSA izolátumokat azonosítottak az egészségügyi dolgozók 20,5%-ának kesztyűin és köpenyén egy 2009-es baltimore-i kutatás során [115]. Schweizer és mtsai. megállapították, hogy egy hetes használat után a kórházi térelválasztó függönyök 92%-a VRE és MRSA baktériumokkal szennyezett [117]. Hayden és mtsai. vizsgálata alapján az egészségügyi dolgozók 52%-ának keze vagy kesztyűje kontaminálódott VRE kórokozókkal a vizsgált betegek környezetének érintése során [118]. Egy kézhigiéniával kapcsolatos tanulmány rámutatott, hogy az egészségügyi dolgozók jobban odafigyelnek a higiénias előírások betartására, ha közvetlen kontaktusba kerülnek a beteggel. Ha csak a beteg környezetét érintik meg, akkor ritkábban fertőtlenítik a kezüket vagy cserélnék kesztyűt [119]. Ez azt jelentheti, hogy az élettelen felületről származó patogéneket hosszabb ideig hordozzák és terjesztik az egészségügyi dolgozók, ami kiemelt fontosságúvá teszi a felületek vizsgálatát. A felületen megtapadt kórokozók a mindennapi takarítás ellenére is képesek lehetnek fennmaradni [120, 121]. A kontaminált élettelen felületek pedig bizonyítottan fertőzések, járványok forrásai lehetnek [8, 122-124].

Az élettelen felületek között fontos szerepe van a textíliáknak, hiszen számos funkciót betöltenek az egészségügyi intézményekben (pl. ágynemű, hálóruga, törölköző, függöny, munkaruha, a betegek és látogatók ruházata). Valamennyi felsorolt textília terjesztheti a nozokomiális fertőzéseket okozó kórokozókat [112, 125-129]. A baktériumok képesek megtapadni a textíliák felületén, bár nem egyforma mértékben. Egyes szerzők szerint a görbült, csavarodott, hidrofil pamutszálak jobb tapadási felületet biztosítanak, mint a sima felszínű, homogén szálakból álló poliészter szövetek [130]. Más szerzők kísérleteik során éppen ellenkező eredményre jutottak [131]. A kórokozók túlélése, szaporodása szempontjából a pamut nagyobb nedvességtartalma előnyös lehet a szintetikus szálakból készült szövetekhez képest, de az ellenkezőjére is

van példa [130]. Az biztos, hogy a MDRB képesek lehetnek a környezetben való szétterjedéshez, újabb fertőzések okozásához elegendő ideig (sőt, akár annál sokkal tovább, hónapokig vagy évekig) túlélni a különböző textíliákon [126, 132]. A kórokozók a textíliák alacsony hőfokú mosása esetén is képesek lehetnek fennmaradni, sőt a mosás során az eredetileg steril textíliák is kontaminálódhatnak [133].

A bakteriális túlélőképesség jelentős szórást mutat akár az egyes baktériumcsoportokon belül is [132]: (i.) *Klebsiella* spp. (2 óra – >30 hónap), (ii.) *Acinetobacter* spp. (3 nap – 5 hónap), (iii.) *S. aureus* (7 nap – 7 hónap), (iv.) *Enterococcus* spp. (5 nap – 4 hónap, de egy VRE törzs négy évet is túlélt [134]). A körülmények (pl. a vizsgált textília szövése, anyagösszetétele, a hőmérséklet, a relatív páratartalom, a tápanyagok jelenléte) mindmind befolyásolhatják a baktériumok túlélőképességét. Több tanulmány is vizsgálta különböző környezeti paraméterek hatását az egyes baktériumtörzsek túlélésének időtartamára [132, 135]. Ugyanakkor még megválaszolatlan kérdés, hogy a környezeti paraméterek hogyan befolyásolják a túlélő baktériumok számát az egészségügyben releváns időtartamokban (néhány óra, néhány nap). A kvantitatív vizsgálatok fontosak lehetnek a fertőzés kockázatának becslése során is.

3.5 Antibakteriális textíliák

Az előző fejezetekben bemutatott kutatások alapján a kórokozókkal kontaminált textíliák fertőzésveszélyt jelenthetnek az egészségügyi intézményekben. A multi-, kiterjedt, illetve pánrezisztenciával rendelkező baktériumtörzsek terjedése különösen fontossá teszi ezen fertőzések megelőzését. Az infekciókontroll, a higiénias előírások, az egészségügyi dolgozók továbbképzése és az antibiotikumok használatának szabályozása mellett az utóbbi évtizedekben egyre inkább újra előtérbe került az alternatív, nem-antibiotikum típusú antimikrobiális hatóanyagok kutatása és használata. Az antimikrobiális szerek közös célja a nem kívánt mikroorganizmusok növekedésének gátlása [130]. Az antibiotikumok szelektíven és specifikusan ható, éppen ezért szűkebb spektrumú kémiai vegyületek. A nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerek hatásspektruma általában szélesebb, hatásmechanizmusuk kevésbé specifikus. A nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerek közé tartoznak a különböző fertőtlenítő-, sterilizáló- és tartósító szerek, antiszeptikumok, felületkezelő anyagok stb. Ha az antimikrobiális hatóanyag reverzibilisen gátolja a mikróbák szaporodását (általában az anyagcsere gátlásával), akkor mikrosztatikus, bakteriális hatásspektrum esetén bakteriosztatikus hatásúnak nevezik [130]. Ha a hatóanyag irreverzibilisen gátolja a

mikróbák szaporodását (általában súlyosan károsítva a sejtmembránt vagy egyéb létfontosságú sejtapparátust), és elpusztítja azok >99,9%-át akkor mikrocidnek, illetve baktericidnek nevezzük [130].

Az antimikrobiális textíliák gyártásakor mind mikrosztatikus, mind mikrocid hatású vegyületek alkalmazhatók akár már a szálképzés során, de a kész szövetek utólagos kikészítése révén is. Az antimikrobiális textíliák használatának célja lehet a kellemetlen szagot okozó mikróbák elusztítása, a mikrobiális rothasztás okozta textilkárosodások megelőzése, illetve a patogének elpusztításával a fertőzések, járványok számának csökkentése [136]. Az antimikrobiális textíliák használata a II. világháborúig vezethető vissza. Az 1940-es években az USA hadseregében klórozott viaszok, réz és antimon sók keverékével kezelték a sátrakat és teherautó ponyvákat a mikrobiológiai rothasztás megelőzése céljából [136]. Manapság a textíliák kezelésére igen nagyszámú antimikrobiális hatóanyag áll a rendelkezésünkre (pl. nehézfémek, kvaterner ammóniumsók, triklozan, kitozan, halogénezett fenolok stb.). Az antimikrobiális szereket fizikai vagy kémiai mechanizmusok révén rögzítik a textília felületéhez. Fizikai rögzítés esetén a hatóanyag elektrosztatikus kölcsönhatások, van der Waals erők hatására adszorbeál a textília felszínére. Nedvesség jelenlétében a hatóanyag kioldódik a környezetbe, így fejtve ki antibakteriális hatását. Ennek megfelelően az ilyen textíliák mosásállósága általában alacsony, a hatóanyag pedig erőteljesen terhelheti az élővizet, elpusztítva az ott élő mikroorganizmusokat, de akár rezisztenciát is indukálhat [130]. A hatóanyagok kémiai rögzítése esetén a molekulák kovalens kötéssel kapcsolódnak a textília anyagához, ezért mosásállóságuk általában magasabb. A szennyeződés, a hatóanyag és egyéb anyagok pl. mosószerek reakciója miatt idővel ezen textíliák hatékonysága is csökken [130].

A textíliák antimikrobiális kikészítése gátolhatja, csökkentheti a kórokozók túlélését és ezáltal terjedését [10, 137]. Az ezüstvegyületek és kvaterner ammóniumsók a textiliparban a leggyakrabban alkalmazott antibakteriális szerek közé tartoznak. Az antibiotikumok 1940-es években induló, általános alkalmazását megelőzően az ezüst volt a legfontosabb antimikrobiális szer [138]. Az antimikrobiális textíliák 25%-ának kikészítése 2011-ben is valamilyen ezüstvegyülettel történt [139]. Az ezüstöt ma széles körben használják az egészségügyben (pl. égési sérülések, sebek és fekélyek kezelése során, orvosi eszközök és egyéb felületek antimikrobiális kikészítése céljából, fogászati amalgám és fog-cement összetevőjeként [140, 141]). Alkalmazása egyre elterjedtebbé

válí a hétköznapok során is (pl. dezodorok, sport- és alsóruházat, ágynemű, háztartási víztisztító patronok stb. [142]). Az ezüstionok alacsony koncentrációban is mikrobicid hatásúak, de az emberi szervezetre ártalmatlanok. Az ezüstionok a bakteriális membránok roncsolása, illetve transzmembrán fehérjék révén jutnak be a sejtbe, ahol képesek hozzákötödni az ATP termelésben szerepet játszó enzimek szulfhidril-csoportjaihoz (-SH), denaturálva és inaktíválva azokat. Az ezüstionok a hidrogénkötések felbontásával képesek interkalálódni a kettősszalú DNS bázispárjai közé, megakadályozva a DNS-replikációt [136, 143]. Az ezüstvegyületeket alkalmazhatják titánium-dioxiddal kombinációban is. A titánium-dioxid fotokatalitikus vegyület, UV-fény hatására szabad gyököket (pl. hidroxil- és szuperoxid anion-gyök) hoz létre. A szabad gyökök roncsolják a sejtek szerves anyagait, elpusztítva a baktériumokat [136]. Egyes vizsgálatok szerint a titánium-dioxidnak önmagában mégis jelentős antibakteriális hatása [144, 145].

A szintén nagy népszerűségnek örvendő kvaterner ammóniumsók (QAC) az 1930-as évek közepe óta használják egészségügyi célokra [146]. A molekulák egy hosszú hidrofób alkiláncból (6-20 szénatom) és egy hidrofil, pozitív töltésű kvaterner ammóniumcsoportból állnak [130, 147]. A QAC-k képesek hozzákötödni a bakteriális membránok lipid vagy fehérje molekuláihoz. A hidrofób lánc membránba való merülése révén a QAC-k dezintegrálják a bakteriális membránt, mely elveszíti szelektív permeabilitását, így a sejt tartalom akadály nélkül kiáramolhat a sejtől. A sejtmembrán súlyos károsításával a QAC-k a sejtbe történő penetráció nélkül is képesek elpusztítani a mikroorganizmusokat. A sejtbe jutva a hatóanyag roncsolja a fehérjéket és a bakteriális DNS-t [136, 147-153].

Ugyan nagyon gyakran alkalmazzák az ezüstvegyületeket és QAC-kat a textíliák antibakteriális kikészítése során, és hatalmas mennyiségű tanulmányt írnak róluk, hatékonyságukat mégis kevesen vizsgálják kvantitatívan, nagyszámú, kórházi eredetű, ismert genetikai hátterű, multidrog-rezisztens baktériumtörzsekkel szemben.

3.6 Baktériumok antibakteriális szerekkel szembeni rezisztenciája

A nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerekkel szemben ellenálló baktériumtörzseket már az 1950-es 1960-as években is leírtak [154]. A baktériumok számos olyan rezisztenciamechanizmussal rendelkezhetnek, mely nem csak az antibiotikumokkal, de bármely antimikrobiális hatóanyaggal szemben védelmet biztosít.

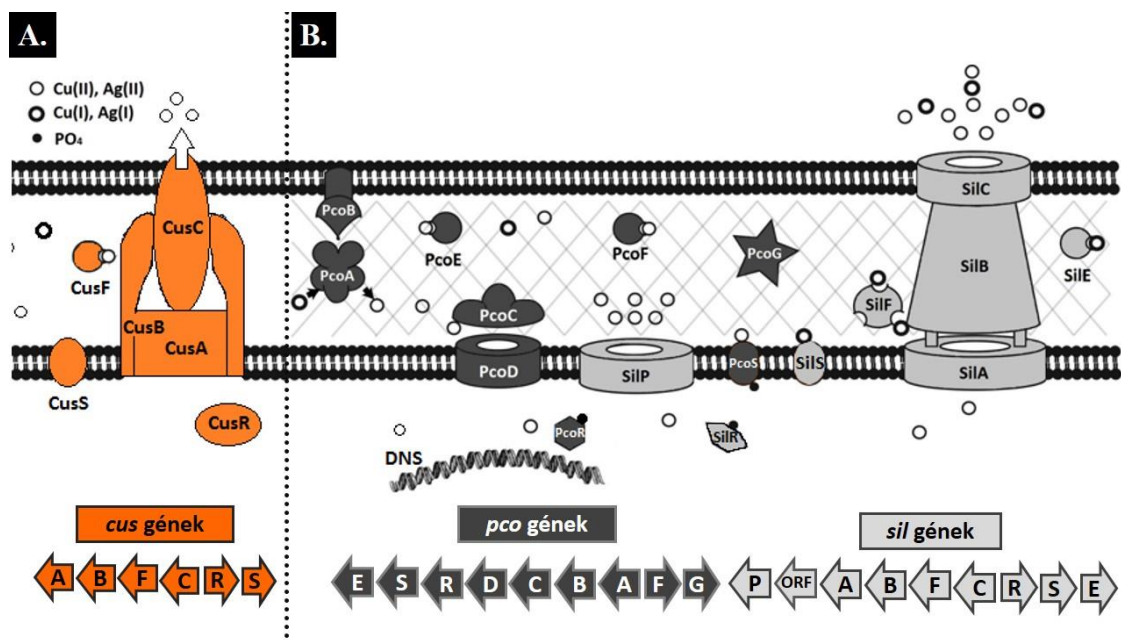
Ilyenek a hatóanyag sejtbeli koncentrációjának csökkentése (pl. sejtmembrán átjárhatóságának csökkentése, effluxpumpák túltermelése, hatóanyag kémiai inaktiválása) és a hatóanyag célpontjának védelme módosítás vagy túltermelés révén [154]. Több tanulmány rámutatott az antibiotikumok és a nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerek között kialakuló korezisztencia lehetőségére. Néhány példa: (i.) triklozán és az anti-tuberkuloid hatású izoniazid (a baktérium, amiben a jelenséget leírták: *Mycobacterium tuberculosis*) [154, 155], (ii.) kis molekulású QAC-k (pl. benzalkónium-klorid) és ciprofloxacín (*P. aeruginosa*) [156], (iii.) triklozan és fluorokinolonok (*P. aeruginosa*) [154], (iv.) klórhexidin vagy benzalkónium-klorid és ciprofloxacín, karbapenemek, aminoglikozidok vagy tetraciklinek (*A. baumannii*) [154, 157], (v.) QAC-k és tetraciklin (*S. aureus*) [154] (vi.) nehézfémionok és tetraciklin, kloramfenikol, β -laktámok, fluorokinolonok (*E. coli*, *P. aeruginosa*) [158]. Bár eddig nem alakult ki széleskörű, globálisan terjedő mechanizmus a nem-antibiotikum típusú mikrobiális hatóanyagokkal szemben, körütekintő alkalmazásukra mindenképpen érdemes figyelmet fordítani.

3.6.1 *K. pneumoniae* és *A. baumannii* réz-homeosztázis és ezüstreizisztencia rendszerei

Egyes toxikus hatású nehézfém-ionok emberi beavatkozás nélkül is megtalálhatóak a természetben, ezért a védekezés mindig is létfontosságú volt a baktériumok számára. Kifinomult, bonyolult és pontosan szabályozott rendszerek alakultak ki a nehézfém-homeosztázis fenntartására. Az egyik kiemelt jelentőségű nehézfém az esszenciális, de ugyanakkor potenciálisan mérgező mikrotápanyag, a réz. A réz- és ezüstionok kémiai hasonlósága miatt a réz-homeosztázis rendszerek az ezüstionok toxikus hatásától is képesek megvédeni a baktériumsejteket.

Sejtfaluk szerkezete miatt a vizsgált Gram-negatív baktériumoknak nemcsak a citoplazmatikus, de a két sejtmembrán közötti periplazmatikus térbe bejutó réz- és ezüstionokkal szemben is védekezniük kell. Az e célt szolgáló homeosztázis és rezisztencia rendszerek alapvető mechanizmusai a nehézfém-ionok intracelluláris vagy periplazmatikus megkötése, enzimatis detoxifikációja és aktív effluxa [159]. A homeosztázis rendszerekben kialakuló mutációk réz- és ezüst-rezisztencia megjelenésével járhatnak.

A *K. pneumoniae* és *A. baumannii* baktériumokban leírt fő réz-homeosztázis mechanizmusok a kromoszómális Cue- és Cus-, illetve az először plazmidon leírt Pco-rendszer. A Cue-rendszer működését rézionok jelenlétében a CueR szabályozó fehérje aktiválja [159]. Működése során a CopA belső membránon található transzport fehérje a Cu^+ -ionokat a citoplazmából a periplazmatikus térbe szállítja, ahol a CueO réz-oxidáz enzim kevésbé toxikus Cu^{2+} -ionokká alakítja azokat. A kromoszómálisan kódolt Cus-rendszer (Copper sensing copper effluxrendszer) a rézionok mellett az ezüstionok sejten belüli koncentrációját is szabályozza [159]. A Cus-rendszer felépítését a 8. ábra A része mutatja.



8. ábra: A: Cus-rendszer (Copper sensing copper effluxrendszer) felépítése. CusABC – három komponensű RND-effluxpumpa; CusF – periplazmatikus fémkötő fehérje; CusRS – szabályozó fehérjék. B: A réz-homeosztázis- és ezüstrezisztencia-sziget (CHASRI) felépítése. Pco-rendszer (Plasmid-borne copper resistance system): PcoA – réz-oxidáz; PcoB – külső membrán transzport fehérje; PcoC, PcoE, PcoF – periplazmatikus fémkötő fehérje; PcoD – belső membrán transzport fehérje; PcoG – M23 metalloproteináz; PcoRS – szabályozó fehérjék. Sil-rendszer (Silver resistance system): SilP – citoplazma detoxifikáló P-ATPáz; SilA, SilB és SilC – RND effluxpumpa tagjai a belső membránon, periplazmatikus térben és a külső membránon; SilF, SilE – periplazmatikus fémkötő fehérje; SilRS – szabályozó fehérjék; ORF – Open Reading Frame (nyitott leolvasási keret). Staehlin és mtsai. [158], illetve Hobman és mtsai. [160] munkája alapján készült saját ábra.

A Cus-rendszer (8. ábra A) egy háromkomponensű RND-effluxpumpából (CusABC), egy a periplazmatikus térben található, réz- és ezüstionokat kötő fehérjéből (CusF) és

egy kétkomponensű szabályozó rendszerből áll (CusRS) [158, 161-163]. A réz-, illetve ezüstionok megemelkedett koncentrációja esetén a CusS és CusR fehérjék indukálják a periplazmatikus fémkötő fehérje (*cusF*) és az effluxrendszer (*cusCFBA*) géneinek átírását [158].

A plazmidon kódolt réz-homeosztázis rendszerek közül kiemelt szerepe van az ezüstrezisztenciában az ún. réz-homeosztázis- és ezüstrezisztencia-szigetnek, angolul Copper Homeostasis and Silver Resistance Island (CHASRI) [158], mely két génklasztert foglal magában – a Pco-rendszert (Plasmid-borne copper resistance system) és a Sil-rendszert (Silver resistance system), ami strukturális és funkcionális homológia a már említett Cus-rendszernek [142, 164]. A CHASRI rendszer felépítését és elemeinek funkcióit a 8. ábra B része mutatja be.

Stahlin és mtsai. szerint a CHASRI egyetlen evolúciós lépésben jött létre, a két réz-homeosztázis mechanizmus összekapcsolódása révén, valószínűleg egy *Enterobacter cloacae* izolátumban [158]. Elméletük szerint a CHASRI kialakulása az emberiség által kiváltott, korábban ismeretlen mértékű réz stresszre (pl. szerszámok, fertőtlenítés, vízvezetékek, állattenyésztés, növényvédelem, romlandó áruk tartósítása) adott bakteriális válasz [158]. A CHASRI nemcsak a réz, de az utóbbi időben egyre nagyobb mértékben használt ezüstvegyületek ellen is védelmet nyújthat. Kialakulása óta horizontális géntranszfer révén terjedt el az *Enterobacteriaceae* családban, és a bioremediációban használt *Shewanellaceae* család egyes tagjaiban [158]. Hatékonyságát növeli, hogy a bakteriális kromozómán, illetve a plazmidokon kódolt réz/ezüst-homeosztázis és rezisztenciamechanizmusok képesek összehangoltan, egymást kiegészítve működni [159]. A kromozómális Cus-rendszer, illetve a plazmidon kódolt CHASRI egyetlen mutációja elegendő lehet a magas szintű réz- és ezüstrezisztencia kialakulásához [158, 165].

Ezüst-rezisztens *E. coli* izolátumot már 1969-ben leírtak [166]. Azóta újra és újra megjelennek különböző fajokhoz tartozó, ezüst-rezisztens baktériumok. Különösen gyakran izolálják őket a kórházak égési osztályain, fogászatokon, szájszöveteken, ahol kiemelt szerepe van az ezüstvegyületek használatának [162, 167]. Napjainkban az egészségügyi alkalmazás mellett a mindennapi életben is egyre elterjedtebbek az ezüsttartalmú antimikrobiális hatóanyagok. Az esetenként indokolatlan és túlzott használat miatt felmerül a széleskörű bakteriális rezisztencia kialakulásának veszélye, mely csökkentheti az ezüst egészségügyi alkalmazhatóságát [142].

4 CÉLKITŰZÉSEK

A nozokomiális fertőzések megelőzését célzó intézkedések fejlesztéséhez, a betegbiztonság növeléséhez hozzájárulhat a MDRB felületi túlélőképességének, az antibakteriális textíliák hatékonyságának és a nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerek elleni rezisztencia megjelenésének, mechanizmusának alaposabb megismerése. Úgy gondoltuk, hogy az ilyen típusú kutatásokhoz nem elegendő egy-egy törzsközponti sztenderd törzs, vagy éppen az adott baktériumcsoport egy-egy extrém magas túlélőképességgel rendelkező izolátumának vizsgálata. A túlélési- és hatékonyságvizsgálatokhoz a kórházi környezetre jellemző, reprezentatív törzsgyűjteményre van szükség. Kutatásunk során négy, a nozokomiális fertőzésekben jelentős szerepet játszó MDRB-csoport 60 törzsét vizsgáltuk, melyek molekuláris genetikai jellemzői a magyarországi és nemzetközi epidemiológiai viszonyokat reprezentálják.

1. Célunk volt kvantitatív módszerekkel megvizsgálni a környezeti körülmények (tápanyagok jelenléte, a textíliák anyaga vagy szövése, a környezet hőmérséklete és relatív páratartalma) hatását a MDRB felületi túlélőképességére.
2. Célunk volt megállapítani, hogy a széles körben alkalmazott, ezüst, illetve kvaterner ammóniumsó tartalmú antibakteriális hatóanyagok képesek-e csökkenteni a MDRB-kal szennyezett textíliák okozta fertőzésveszélyt. A hatóanyagok MDRB elleni antibakteriális hatását összehasonlítottuk a hatékonyságvizsgálatok során gyakran alkalmazott ATCC (American Type Culture Collection) sztenderd törzsek elleni eredményünkkel. Az adatok elemzéséhez kétféle, a tudományos publikációkban gyakran leírt módszert használtunk, majd összevetettük az eredményeket.
3. Célunk volt megállapítani, hogy a hazánkra jellemző, különböző szekvencia típusú és antibiotikum-rezisztenciájú *K. pneumoniae* és *A. baumannii* törzsek milyen mértékben képesek ellenállóvá válni az ezüstionokkal szemben. Kutattuk az ezüstrezisztencia indukálhatóságát, horizontális átvihetőségét, a háttérben álló mechanizmusokat, illetve az ezüstrezisztencia kialakulásának hatását a baktériumok szaporodási képességére.

5 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

5.1 Baktériumok

Négy, az egészségügyi ellátással kapcsolatos fertőzésekben jelentős szerepet játszó, aerob, multidrog-rezisztens baktériumcsoport hatvan törzsét vizsgáltuk a kísérleteink során (Melléklet, Táblázat A-D.). A törzseket 1998 és 2014 között izolálták magyarországi kórházakban, szekvencia típusuk és antibiotikum-rezisztencia mintázatuk a nemzetközi epidemiológiai viszonyokat reprezentálja. Összehasonlítás céljából kiválasztottunk négy, antibiotikumokkal szemben érzékeny, törzsközponti kontroll törzset (American Type Culture Collection - ATCC), melyeket gyakran alkalmaznak az antibakteriális textíliák hatékonyságának vizsgálatára [168].

- Gram-negatív baktériumok: 15 multidrog-rezisztens *Klebsiella pneumoniae* (MRKP); 15 multidrog-rezisztens *Acinetobacter baumannii* (MACI); ATCC 25922 és ATCC 11105 *Escherichia coli*.
- Gram-pozitív baktériumok: 15 methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus* (MRSA); 15 vankomicin-rezisztens *Enterococcus faecium* (VRE); ATCC 25923 és ATCC 6538 *Staphylococcus aureus*.

5.2 Textíliák

5.2.1 Kezeletlen textíliák

A kísérleteink során használt textíliák az INNOVATEXT Textilipari Műszaki Fejlesztő és Vizsgáló Intézet Zrt.-től származnak:

- 100% pamut (CO) lepedő, vászonkötés, négyzetmétertömeg: 104 g/m²
- 100% pamut (CO) törölköző, frottír kötés, négyzetmétertömeg: 539 g/m²
- 100% poliészter (PES) lepedő, vászonkötés, négyzetmétertömeg: 106 g/m²

5.2.2 100% pamut lepedő antibakteriális kikészítése

A 100% pamut lepedőt a Budapesti Műszaki Egyetemen, a Szerves Kémia és Technológia Tanszéken készítettük ki Dr. Víg András és Frank Zsuzsanna segítségével a gyártó (Sanitized AG) ajánlása alapján.

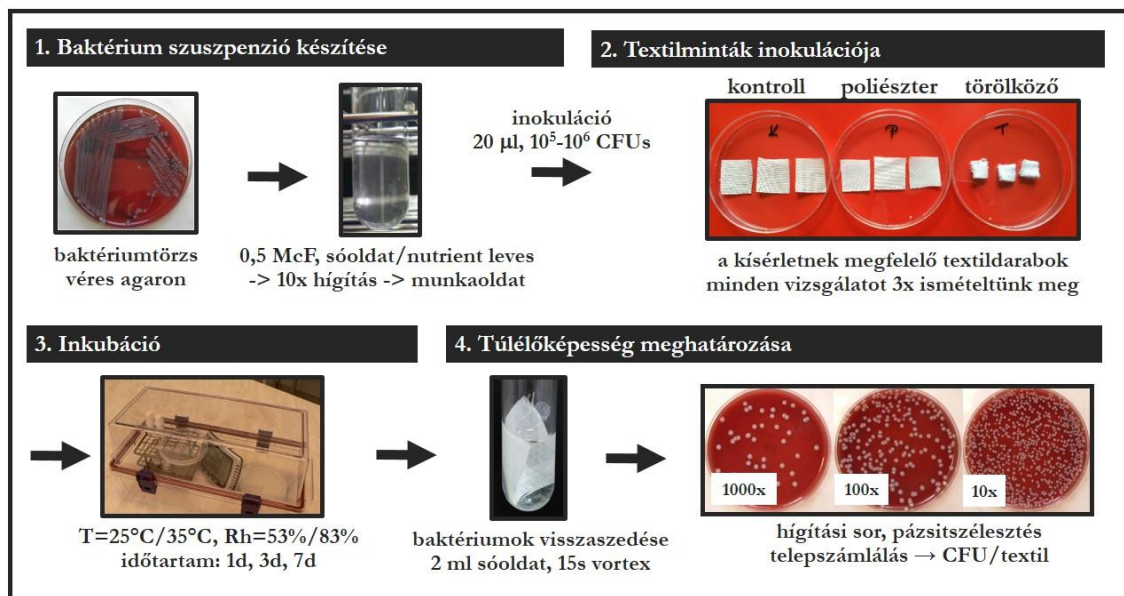
A pamut lepedő antibakteriális kikészítéséhez a Sanitized egy-egy kikészítőszerét használtuk:

- Sanitized T99-19
50 m/m% dimetil-tetradecil(3-(trimetoxiszilil)propil)ammónium-klorid) –
innentől a **T99-19-QAC** néven hivatkozom rá.
- Sanitized T27-22 Silver
2 m/m% AgCl és 8 m/m% TiO₂ – innentől **T27-22-Silver** néven hivatkozom rá.

A lepedőt 10×20 cm-es darabokra vágtuk, és egy percre áztattuk a hatóanyagokból készített homogén munkaidőanyagokban (T99-19-QAC: 5,6 g/l, T27-22-Silver: 6,6 g/l). A felesleges folyadékot laboratóriumi fulár segítségével távolítottuk el (átlagos préshatásfok: 106%). A kikészített textil darabokat szobahőmérsékleten szárítottuk. A gyártó leírása alapján hőkezelés nem volt szükséges, mivel az csupán a mosásállóságot növeli, de kísérleteink során ezt nem vizsgáltuk.

5.3 Túlélőképesség vizsgálata textiliák felületén

A baktériumok túlélőképességének vizsgálatát az ISO 20743-2013 szabvány alapján kidolgozott protokoll szerint végeztük [169]. A kísérlethez a lepedőket 2,5 cm, a törölközőt 1 cm oldalhosszúságú négyzetekre vágtuk fel. Így a törölköző nagyobb anyagvastagsága és nedvszívó képessége ellenére minden textiltípusnál azonos kísérleti paramétereket alkalmazhattunk (9. ábra).



9. ábra: A baktériumok túlélőképességének vizsgálata száraz textiliák felületén. (saját fotók). A rövidítések jelentése: „McF” – McFarland; „CFU” – telepképző egység; „T” – hőmérséklet; „Rh” – relatív páratartalom; „d” – nap, „s” – másodperc.

A baktériumtörzsek friss tenyészeiből (Columbia agar 5% birkavérrel, Országos Közegészségügyi Intézet (OKI), Budapest, Magyarország) 0,5 McFarland (McF) optikai denzitású szuszpenziót készítettünk a megfelelő inokulációs közegbe (0,9 m/m% fiziológias sóoldat vagy nutrient leves (OKI)). A nutrient leves 10 g/l húskivonatot (Lab lemco, Oxoid, UK), 10 g/l bakteriológiai peptont (L34, Oxoid, UK) és 5 g/l NaCl-t tartalmazott vízben szuszpendálva. A 0,5 McF-es baktériumszuszpenziók tízszeres hígításával kapott munkaoldatokkal dolgoztunk a kísérletek során. 20 µl (~10⁵-10⁶ Colony Forming Units – CFUs, telepképző egység) munkaoldatot csepegtettünk a megfelelő méretre vágott textildarabokra az abszorpciós módszer alapján (ISO 20743-2013 [169]). Az inokulált CFU/textil értékeket minden munkaoldat esetében meghatároztuk. Hígítási sort készítettünk (10⁴×, 10⁵× és 10⁶×), majd az oldatokból 100-100 µl-t üvegbottal véres agarra pázsítszélesztéssel kikentünk. A lemezeket 24h-ig 35 °C-on inkubáltuk, és másnap megszámloltuk a kinőtt telepeket [169].

A textildarabokat Wassermann-csövekben inkubáltuk a vizsgálni kívánt körülmények között, a megfelelő ideig. Az inkubációs kamrákban tútelített sóoldatokkal szabályoztuk a páratartalmat (Rh≈52% - Mg(NO₃)₂, Rh≈83% - KCl), a kamrákat 25 °C-os, illetve 35°C-os termosztátban helyeztük el. A kívánt inkubációs idő letelte után 2 ml fiziológias sóoldatot adtunk a textilmintákhoz, és 15 másodpercig vortexeltük a csöveket. Az így kapott lemosó oldatból hígítási sort (10×, 100× és 1000×) készítettünk, és a fentebb már leírt módszerrel telepszámlálást végeztünk [169]. Minden vizsgálatot háromszor ismételtünk meg. A törzsek túlélőképessége (CFU/textil) a három vizsgálat eredményének számtani átlaga.

A különböző inokulált CFU/textil értékek miatt a baktériumok túlélőképességének összehasonlításához bevezettünk a Redukciós Ráta Érték (R-érték) változót. Az R-érték változót az ISO 20743-2013 szabványban [169] található Antibakteriális Aktivitás Érték, illetve Wendt és mtsai. két publikációjában [170, 171] található, a szárítás okozta redukció kiszámítása során használt képlet alapján a következőképpen definiáltuk:

$$R_k^i = \log_{10} I_k - \log_{10} C_k^i$$

ahol „I” az inokulált CFU/textil érték, „C” a baktériumtörzs túlélőképessége (CFU/textil) a „k” kísérleti körülmények között, az „i” inkubációs idő letelte után. Az egyes törzsek R-értékeiből minden baktériumcsoportban meghatároztuk a túlélőképesség átlagát (Á) és szórását (Sz). Az eredmények kiértékeléséhez IBM SPSS

statisztikai programot és párosított t-próbát használtunk. Az eredményt szignifikánsnak tekintettük, ha $P < 0,05$.

5.3.1 Környezeti körülmények hatásainak vizsgálata

A környezeti paraméterek bakteriális túlélésre kifejtett hatását a 1. táblázat alapján bemutatott kísérleti körülményeket alkalmazva vizsgáltuk. Elemeztük a textília anyagösszetételének (100% pamut, 100% poliészter), szövésének (vászonkötés, frottír kötés), a tápanyagok jelenlétének (fiziológiás sóoldat, nutrient leves) hatását a baktériumok túlélőképességére. A környezeti paraméterek hatásának vizsgálatához modelleztük egy átlagos kórtermi környezetben lévő ($T=25^{\circ}\text{C}$, $Rh=52\%$), illetve egy a beteg testéhez közeli textília állapotát ($T=35^{\circ}\text{C}$, $Rh=83\%$). Az 1. táblázatnak megfelelően az egyes kísérleti körülményekre a „KONTROLL”, „TÖRÖLKÖZŐ”, „POLIÉSZTER”, „TEST” és „TÁPANYAG” körülmény névvel fogok hivatkozni a továbbiakban.

Kísérleti körülmény neve	TÖRÖLKÖZŐ	POLIÉSZTER	KONTROLL	TEST	TÁPANYAG
textília típusa (szövés, négyzetméter tömeg)	100% CO törölköző frottír 539 g/m²	100% PES lepedő vászonkötés 106 g/m²	100% CO lepedő vászonkötés 104 g/m ²	100% CO lepedő vászonkötés 104 g/m ²	100% CO lepedő vászonkötés 104 g/m ²
környezeti körülmények	$T=25^{\circ}\text{C}$, $Rh=52\%$	$T=25^{\circ}\text{C}$, $Rh=52\%$	$T=25^{\circ}\text{C}$, $Rh=52\%$	$T=35^{\circ}\text{C}$, $Rh=83\%$	$T=25^{\circ}\text{C}$, $Rh=52\%$
inokuláló közeg	0,9 m/m% fiziológiás sóoldat	0,9 m/m% fiziológiás sóoldat	0,9 m/m% fiziológiás sóoldat	0,9 m/m% fiziológiás sóoldat	nutrient leves

1. táblázat: A kísérleteink során vizsgált környezetek összefoglalója. A dőlt és félkövér formázás jelöli a „KONTROLL” körülménytől való eltérést, vagyis a vizsgált paramétert. CO: pamut, PES: poliészter, T: hőmérséklet, Rh: relatív páratartalom

Az 6.3-as alfejezetben ismertetett protokoll szerint mértük meg a 60 MDRB túlélőképességét az öt kísérleti körülmény mellett. Az optimális inkubációs idők kiválasztásához előkísérletet végeztünk baktériumcsoportonként 3-3 törzssel (Melléklet, Táblázat A-D.), négyféle inkubációs időt alkalmazva (az inokulációt követően azonnali leszedés a textilről, illetve egy, három és hét napos inkubáció). Az előkísérletben használt törzseket egy korábbi vizsgálatunk alapján jelöltük ki (azok alapján a legalacsonyabb, a medián és a legmagasabb túlélőképességgel rendelkező törzset választottuk mindegyik baktériumcsoportból) [172]. Az előkísérlet eredményei alapján

a baktériumcsoportonként 15-15 törzssel elvégzett átfogó kísérlethez a következő inkubációs időket választottuk: MRKP: 1 nap, MRSA: 3 nap, MACI és VRE: 7 nap. Az eredményeket IBM SPSS programot és párosított t-tesztet alkalmazva elemeztük.

5.3.2 Antibakteriális hatóanyagok hatékonyságának vizsgálata

A kétféle Sanitized hatóanyag (T27-22-Silver, T99-19-QAC), és 0,1M AgNO₃ oldat (Szkarabeusz Kft, Pécs, Magyarország) minimum gátló koncentrációját (Minimum Inhibitory Concentration – MIC) és minimum baktericid koncentrációját (Minimum Bactericidal Concentration – MBC) mikrolevessé hígítással módszerrel határoztuk meg az EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) leírása alapján [173]. A MIC az a legkisebb hatóanyag koncentráció (mg/l), amely már megakadályozza a baktériumok szaporodását. Az MBC az a legkisebb hatóanyag koncentráció (mg/l), ami nemcsak a baktériumok szaporodását gátolja, hanem $\geq 99,9\%$ -t el is pusztítja. Ha az MBC és az MIC érték hányadosa ≤ 4 , akkor a hatóanyag baktericid, azaz baktériumölő, ennél nagyobb hányados esetén bakteriosztatikus.

5.3.3 Antibakteriális kikészítésű textíliák hatékonyságának vizsgálata

A Sanitized hatóanyagaival (T27-22-Silver, T99-19-QAC) kikészített 100% pamut lepedő antibakteriális hatékonyságát az 6.3 alfejezetben leírtak szerint vizsgáltuk általános körtermi körülményeket modellezve (T=25°C, Rh=53%). Az 6.1-es alfejezetben leírtak szerint 60 multidrog-rezisztens, nozokomiális fertőzést okozó és 4 antibiotikumokkal szemben érzékeny, ATCC kontroll törzs túlélési képességét vizsgáltunk a kezeletlen és az antibakteriális kikészítésű lepedők felületén. Az optimális inkubációs idők meghatározásához ebben az esetben is előkísérletet végeztünk a MDRB-csoportok 3-3 törzsével (Melléklet, Táblázat A-D.), négyféle inkubációs időt alkalmazva (az inokulációt követően azonnali leszedés a textilről, szárítás (laborkörülmények között ~10 perc), egy óra és egy nap). Előkísérleteink eredményei alapján két, kórházi szempontból releváns inkubációs időtartamot választottunk a további kísérletekhez – a hatóanyag rövid távú hatásának vizsgálatához egy órát, hosszú távú hatásának vizsgálatához egy napot. Kontrollként kezeletlen, 100% pamut lepedőt használtunk.

Az antimikrobiális textíliák hatékonyságát az Antibakteriális Aktivitás Értékkel (A) fejeztük ki, az ISO 20743-2013 szabványnak [169] megfelelően:

$$A = \log_{10} C_i - \log_{10} T_i,$$

ahol, „C” a kontroll, „T” a megfelelő antimikrobiális textílián való bakteriális túlélőképesség (CFU/textil), a megfelelő „i” inkubációs időt követően. Az ISO 20743-2013 szabvány alapján a kezelt textíliák antibakteriális hatékonysága szignifikáns, ha $2 \leq A < 3$, erősen szignifikáns, ha $A \geq 3$. Az egyes törzsek A-értékeiből minden baktériumcsoportban meghatároztuk az antibakteriális hatékonyság átlagát (\bar{A}) és szórását (Sz).

Az eredmények elemzése során az IBM SPSS statisztikai programot használtuk. Az eredményt szignifikánsnak tekintettük, ha $P < 0,05$. Párosított t-próba használatával hasonlítottuk össze az R-értékeket a kezeletlen és a kétféle antibakteriális textílián. A Pearson-féle korrelációt alkalmazva összefüggést kerestünk a baktériumtörzsek hatóanyagokkal szembeni MIC és MBC értéke, illetve ugyanazon hatóanyagokkal kikészített antimikrobiális felületen való túlélése között. Egy-tényezős variancia-analízissel (One-way ANOVA) hasonlítottuk össze a baktériumcsoportok R-értékeit és A-értékeit Gram-csoportosítás, faj szerinti besorolás, illetve fajon belüli csoportosítás alapján. Az egyes fajokon belül a törzseket klonalitás, illetve az antibiotikum-rezisztenciamechanizmusok alapján csoportosítottuk: (i.) MRKP: CG14/15 és CG258 nemzetközi klónkomplexek vagy sporadikus klónok; (ii.) MACI: CC1 vagy CC2 nemzetközi klónkomplexek; (iii.) MRSA: nosokomiális HA-MRSA vagy közösségben előforduló CA-MRSA törzsek, illetve EMRSA-15 vagy New York/Japán nemzetközi klónok; (iv.) VRE: *vanA* vagy *vanB* rezisztencia gént hordozó törzsek.

5.4 Ezüstrezisztencia vizsgálata

5.4.1 Ezüstrezisztencia indukálása szoktatási kísérletek révén

Az ezüstrezisztencia kialakulását a MRKP és MACI törzseknél vizsgáltuk Tóth és mtsai módszere alapján, mikrotiter lemezen, folyamatosan növekvő AgNO_3 koncentráció mellett [174]. Sütterlin és mtsai. kutatását alapul véve a baktériumtörzseket rezisztensnek tekintettük >512 mg/l MIC érték esetén [141].

Az ezüst-rezisztens MRKP leszármazottakat és az eredeti, szülő törzseket PFGE vizsgálat révén hasonlítottuk össze. A PFGE vizsgálatot az OKI Fágtypizálási és molekuláris epidemiológiai osztályán végezték a CDC (Centers for Disease Control and Prevention) protokollja szerint [174]. Az ezüst-rezisztens fenotípus fennmaradását szélesztési sorozat révén vizsgáltuk Ag^+ tartalom nélküli véres agaron. A 25.

átszélesztésig minden ötödik alkalom után ellenőriztük az ezüst-rezisztens törzsek AgNO₃ MIC értékét.

5.4.2 Új-generációs DNS szekvenálás

Az ezüstreizisztencia háttérében álló molekuláris mechanizmusokat új generációs DNS szekvenálás módszerével kutattuk. Öt szülő – ezüst-rezisztens törzspár (K5149-S/R, K6004-S/R, K5132-S/R, K5442-S/R, K5024-S/R) és két, ezüsthöz nem szoktatható törzs (K5825, K5312) genetikai állományát hasonlítottuk össze (Melléklet, Táblázat A.). A bakrériumsejtek DNS tartalmának kivonásához UltraClean Microbial DNA isolation kitet (Mo Bio Laboratories, USA) használtunk a gyártó utasításainak megfelelően. A transzkonjugáns törzsek plazmid DNS-ét a Birnboim-Doly-féle módszerrel izoláltuk [175]. A klónkönyvtárak a SureSelect QXT Library Prep Reagent Kittel (Agilent Technologies, USA) készültek a gyártó utasításai szerint. A DNS könyvtárak szekvenálását MiSeq (Illumina Inc., San Diego, USA) készüléken, MiSeq reagens kit v2 használatával, pair-end módszerrel (2x250 bázispár) végeztük a gyártó utasításainak megfelelően. A nyers DNS szekvencia adatok feldolgozásához az Illumina Basespace felhőalkalmazásban lévő, online programokat használtuk. A szekvenálás minőségi ellenőrzését a FAST QC, a quality trimmelést a FASTQ toolkit, a teljes genom *de novo* összeszerelését a SPAdes Genome Assembler 3.9.0. alkalmazásokkal végeztük. A plazmid DNS-ek *de novo* összeszereléséhez a plasmidSPAdes Genome Assembler 3.9.0. programot használtuk. Az összeszerelt genomokat a Center for Genomic Epidemiology online bioinformatikai alkalmazásaival (ResFinder [176], MyDbFinder, PlasmidFinder, pMLST [177], <https://cge.cbs.dtu.dk/services/>, Dán Műszaki Egyetem) és a Keith Jolley által fejlesztett plasmid MLST weboldal segítségével (<https://pubmlst.org/plasmid/>, Oxford Egyetem [178]) elemeztük. A vizsgált MRKP genomokat a BLAST alkalmazással (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) hasonlítottuk össze a Genbank adatbázisában található szekvenciákkal. A szülő – ezüst-rezisztens leszármazott törzsek core és accessory genomjának összehasonlításához a SeqSphere+ (Ridom GmbH, Germany) programot használtuk. A CHASRI elemzését a SnapGene Viewer 3.3.3 szoftverrel végeztük. A plazmidokon található integronokat az INTEGRALL adatbázis (<http://integrall.bio.ua.pt>) segítségével azonosítottuk.

5.4.3 Növekedési görbék ezüstmentes és ezüstöt tartalmazó közegben

Az eredeti és az ezüsthöz szoktatott törzsek növekedési képességét turbidimetriás módszerrel hasonlítottuk össze, monokultúrában, három különböző AgNO_3 koncentráció mellett (0 μM , 5 μM és 315 μM Ag^+). A baktériumtörzsek friss tenyészetéből 0,5 McF optikai denzitású ($\sim 10^8$ CFU/ml) szuszpenziót készítettünk a megfelelő Ag^+ -koncentrációjú agy- és szívkivonat táplevesbe (brain heart infusion – BHI, (OKI)). Az Ag^+ -koncentráció szinten tartása melletti százszoros hígítás után kapott munkaoldatokból 200-200 μl -t mértünk ki U-aljú mikrotiter lemez mélyedéseibe. A lemezeket 35 °C-on folyamatos rázatás (260 rpm) mellett inkubáltuk. A baktériumszuszpenziók optikai denzitásának megállapításához SpectraMax 340 spektrofotométert használva (Molecular Devices, Sunnyvale, USA), 620 nm-en, 45 percenként megmértük az oldatok abszorbanciáját. Minden vizsgálatot háromszor végeztünk el, majd az eredményeket átlagoltuk. Az így kapott optikai denzitás értékek természetes alapú logaritmusát az inkubációs idő függvényében ábrázolva megkaptuk a törzsek növekedési görbéit (Eredmények fejezet 16. ábra). A növekedési görbék alatti területek (area under the curve – AUC) meghatározásához Microsoft Excel táblázatkezelő szoftvert (Microsoft Corporation, Washington, USA) használtunk. A növekedési görbék és az AUC-értékek összehasonlítása révén elemeztük a baktériumtörzsek relatív fitneszét.

5.4.4 Túlélőképesség vizsgálata kontroll és T27-22-Silver lepedőn

A szülő törzsek és az AgNO_3 oldathoz sikeresen szoktatott ezüst-rezisztens leszármazottaik túlélőképességét az 6.3 fejezetben leírtak szerint vizsgáltuk meg kontroll (100% pamut lepedő) és T27-22-Silver hatóanyaggal kikészített 100% pamut lepedő felületén. Az elemzés során a Redukciós Ráta Értékeket és Antibakteriális Aktivitás Értékeket IBM SPSS program és párosított t-teszt segítségével hasonlítottuk össze.

5.4.5 Konjugációs kísérletek

Az ezüst-rezisztenciát okozó gének horizontális átvihetőségét konjugációs kísérletekkel vizsgáltuk. A konjugációs kísérletet Werner és mtsai. módosított protokollja alapján végeztük el (filter mating procedure [179].) A donor törzseket (CHASRI hordozó K5149-R, K6004-R, K5132-R és K5442-R) a teljes genom szekvenálás (Whole Genom Sequencing, WGS) eredményei alapján választottuk ki. Recipiensként az *E. coli* K12

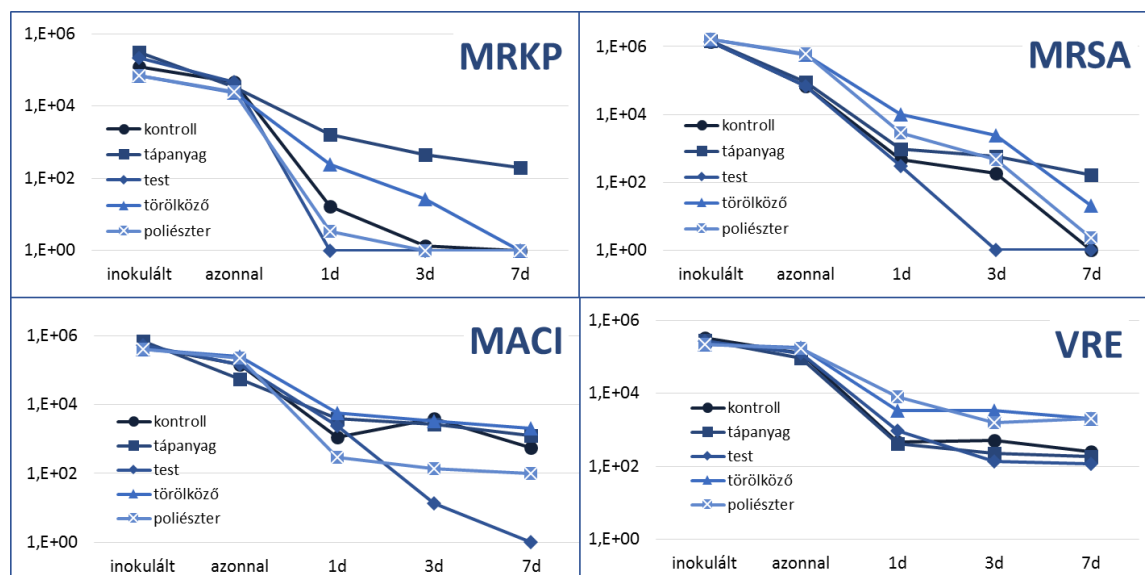
J5-3^{Rif} törzset használtuk. A transzkonjugánsok kimutatásához 32 mg/l (188 µM) AgNO₃-t és 300 mg/l rifampicint tartalmazó szelektív Mueller-Hinton táptalajt készítettünk. A transzkonjugánsokat MALDI-TOF MS Biotyper rendszerrel (matrix-assisted laser desorption ionisation-time of flight-mass spectroscopy; mátrixasszisztált lézerdeszorpció-ionizációs tömegspektrométer) identifikáltuk, majd az 6.3.2 alfejezetben ismertetett módszerrel meghatároztuk az AgNO₃ MIC és MBC értékeiket. A donor és a transzkonjugáns törzsek plazmid DNS-ét Birnboim-Doly-féle módszerrel izoláltuk [175], majd vertikális agaróz gélelektroforézissel meghatároztuk a törzsek plazmid profilját.

6 EREDMÉNYEK

6.1 Környezet hatása a MDRB felületi túlélőképességére

6.1.1 Előkísérlet

Az optimális inkubációs idők meghatározásához baktériumcsoportonként 3-3 törzssel (Melléklet, Táblázat A-D.) előkísérletet végeztünk, négyféle inkubációs időt alkalmazva (az inokulációt követően azonnali leszedés a textilről, illetve egy, három és hét nap). A bakteriális túlélés átlageredményeit a 10. ábra mutatja.



10. ábra: A környezeti paraméterek hatásnak vizsgálata, előkísérlet. A görbék a 3-3 megvizsgált MRKP, MRSA, MACI és VRE baktériumtörzs átlagos túlélési képességét mutatják ötféle kísérleti környezetben (1. táblázat). Az x-tengely az inkubációs időt, az y-tengely az átlagos CFU/textil értékeket mutatja.

Az inokulációt követő azonnali lemosással megvizsgáltuk a MDRB leszedhetőségi arányát a három különböző típusú textíliáról. A leszedhetőségi arányok között nem találtunk szignifikáns különbséget egyik MDRB-csoport esetében sem. Összehasonlítva a MDRB túlélőképességét az öt különböző kísérleti környezetben megállapítottuk, hogy valamennyi MDRB a „TEST” körülmény esetén mutatta a legalacsonyabb CFU/textil értékeket. A tápanyagok jelenléte és a textília típusa az MDRB-csoportok túlélőképességét különbözőképpen befolyásolta (10. ábra).

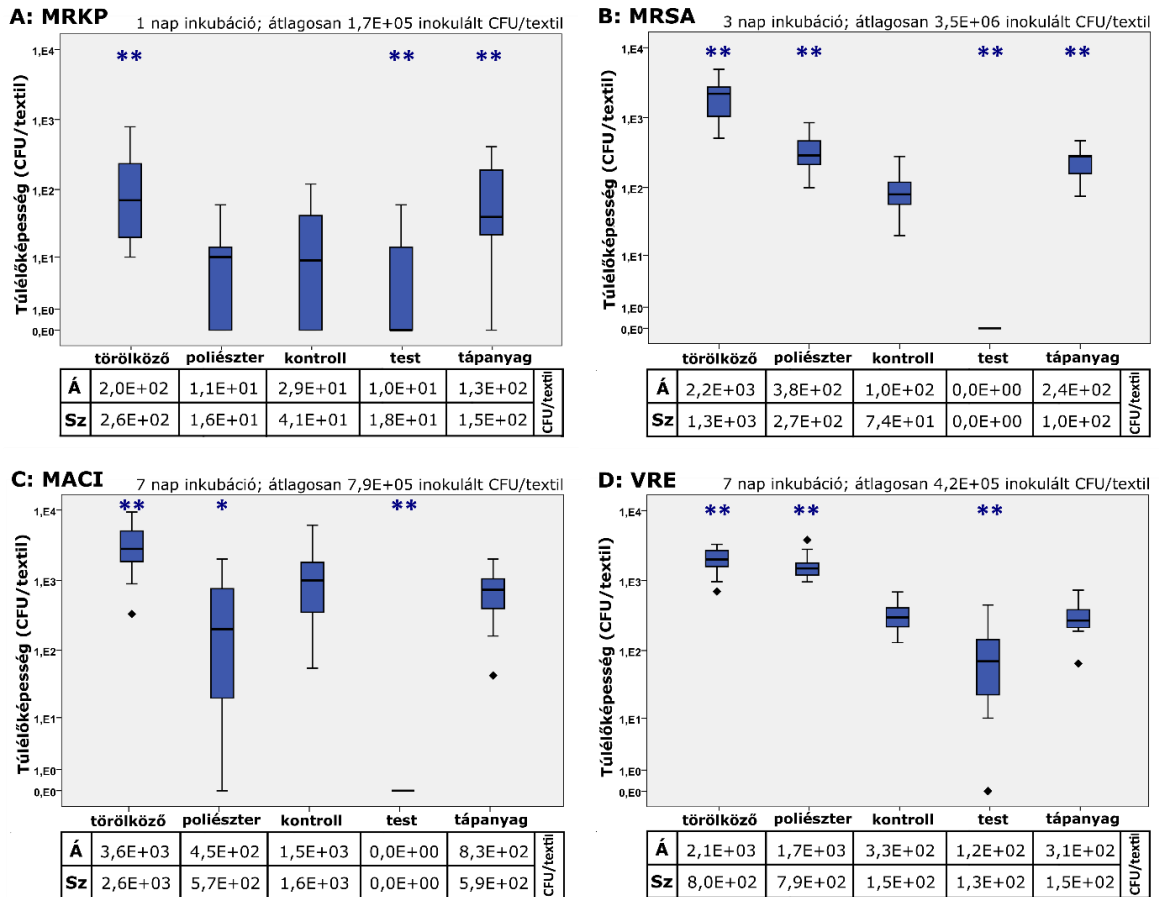
A négy MDRB-csoport közül a MRKP törzsek túlélőképessége volt a legalacsonyabb. A MRSA törzsek magasabb CFU/textil értékeket mutattak, mint a MRKP törzsek, de hét nap után egyetlen MRSA törzs sem volt visszatenyészthető sem a „TEST”, sem a „KONTROLL” környezetben inkubálva. A MACI és VRE törzsek hasonlóan magas túlélőképességgel rendelkeztek a „TEST” körülmény kivételével, melyben mindhárom MACI törzs elpusztult. Az eredmények alapján az átfogó kísérlethez a következő inkubációs időket választottuk: MRKP: 1 nap, MRSA: 3 nap, MACI és VRE: 7 nap.

6.1.2 Átfogó kísérlet

Az átfogó kísérlet eredményei (11. ábra és a 2. táblázat) megerősítették, hogy a négy vizsgált MDRB-csoport közül a MRKP törzsek rendelkeznek a legalacsonyabb túlélőképességgel. „KONTROLL” körülményben vizsgálva 6 MRKP törzs visszatenyészthetetlen volt a megvizsgált 15-ből egy napos inkubáció után. Ugyanakkor mind a 15 MACI és mind a 15 VRE törzs megőrizte életképességét a „KONTROLL” körülmény mellett 7 napos inkubáció után.

R-érték Á ± Sz		Kísérleti körülmény				
		TÖRÖLKÖZŐ	POLIÉSZTER	KONTROLL	TEST	TÁPANYAG
1 nap	MRKP	3,3 ± 0,6 **	4,5 ± 0,6	4,3 ± 0,7	5,2 ± 0,2 **	3,6 ± 0,8 **
3 nap	MRSA	3,3 ± 0,3 **	4,0 ± 0,4 **	4,5 ± 0,4	6,5 ± 0,3 **	4,1 ± 0,3 **
7 nap	MACI	2,1 ± 0,4 **	3,5 ± 1,0 *	2,8 ± 0,6	5,5 ± 0,4 **	3,0 ± 0,4
	VRE	2,3 ± 0,3 **	2,4 ± 0,3 **	3,1 ± 0,3	4,0 ± 0,9 **	3,1 ± 0,3

2. táblázat: A Redukciós Ráta Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a 15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE esetében, kísérleti körülményenként (1. táblázat). A „KONTROLL” körülményhez képest szignifikáns eltéréseket **félkövér** formázással és csillaggal jelöltük (*0,01 ≤ P < 0,05; **P < 0,01).



11. ábra: 15 MRKP (A), 15 MRSA (B), 15 MACI (C) és 15 VRE (D) túlélőképessége öt kísérleti körülmény (1. táblázat) mellett. A dobozok mutatják a mediánt és az interkvartilis tartományt (IQR), a bajuszok a 75. percentilis + $1,5 \times IQR$ és a 25. percentilis + $1,5 \times IQR$ értékeket, a fekete rombuszok pedig a kiugró értékeket. A dobozdiagramok felett látható az inkubációs idő és az átlagos inokulált CFU/textil értéket. Csillagokkal jelöltük a túlélőképesség szignifikáns ($*0,01 \leq P < 0,05$; $**P < 0,01$) eltérését a „KONTROLL” körülményhez képest. A diagramok alatti táblázatok a túlélőképesség átlagos értékét (Á) és szórását (Sz) mutatják.

A környezeti paraméterek változtatása minden MDRB-csoport túlélőképességében okozott szignifikáns különbségeket. Minden MDRB-csoport a „TEST” körülmény esetén mutatta a legalacsonyabb túlélőképességet. A „TEST” körülmény során mért R-értékek minden MDRB-csoportnál szignifikánsan magasabbak voltak, mint a „KONTROLL” körülmény esetében ($P < 0,01$, 11. ábra és 2. táblázat). A MACI törzseknél találtuk a legnagyobb, az MRKP és VRE törzseknél a legalacsonyabb különbséget a „TEST” és „KONTROLL” körülmények R-értékei között. Minden MDRB-csoport a „TÖRÖLKÖZŐ” körülményben inkubálva mutatta a legmagasabb túlélőképességet. A „TÖRÖLKÖZŐ” körülmény során mért R-értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak, mint a „KONTROLL” körülmény esetén ($P < 0,01$, 2. táblázat).

A „TÁPANYAG” és a „POLIÉSZTER” körülmények eltérően hatottak a MDRB-csoportok felületi túlélőképességére. Tápanyagok jelenlétében a MRKP és MRSA törzsek szignifikánsan nagyobb túlélőképességet mutattak, mint tápanyagszegény közegben inokulálva ($P < 0,01$, 11. ábra és 2. táblázat). Ugyanakkor a tápanyagok jelenléte vagy hiánya nem befolyásolta a MACI és VRE törzsek túlélőképességét. „POLIÉSZTER” körülmény esetén a Gram-pozitív MRSA és VRE törzsek szignifikánsan magasabb túlélőképességet mutattak, mint „KONTROLL” körülmények között vizsgálva ($P < 0,01$, 11. ábra és 2. táblázat). A „POLIÉSZTER” szövet mindkét Gram-negatív MDRB-csoport túlélőképességét csökkentette. MACI törzsek esetén a hatás szignifikánsnak bizonyult ($P = 0,02$). Két MACI törzs is elpusztult „POLIÉSZTER” lepedőn, ugyanakkor „KONTROLL”, „TÖRÖLKÖZŐ” és „TÁPANYAG” körülmények között valamennyi megőrizte életképességét.

6.2 Antibakteriális textíliák hatékonysága

6.2.1 Hatóanyagok hatékonysága

A Sanitized hatóanyagok MIC és MBC értékeinek aránya alapján mindkét hatóanyag baktericid hatása mind a hatvan MDRB-mal, és mind a négy ATCC törzssel szemben (3. táblázat).

A.	T27-22-Silver (AgCl)		T99-19-QAC	
	MIC ₅₀ (MIC _{tartomány})	MBC ₅₀ (MBC _{tartomány})	MIC ₅₀ (MIC _{tartomány})	MBC ₅₀ (MBC _{tartomány})
mg/l				
MRKP	8 (4-32)	16 (4-64)	256 (128-512)	256 (128-512)
MACI	8 (2-32)	16 (4-32)	64 (32-128)	64 (32-128)
MRSA	4 (2-8)	8 (4-16)	8 (8-8)	8 (8-16)
VRE	4 (2-8)	8 (8-16)	8 (4-8)	8 (8-8)

B.	T27-22-Silver (AgCl)		T99-19-QAC	
	MIC	MBC	MIC	MBC
mg/l				
ATCC <i>E. coli</i>	0,5; 1	0,5; 1	32; 64	32; 64
ATCC <i>S. aureus</i>	8; 8	8; 16	8; 8	8; 8

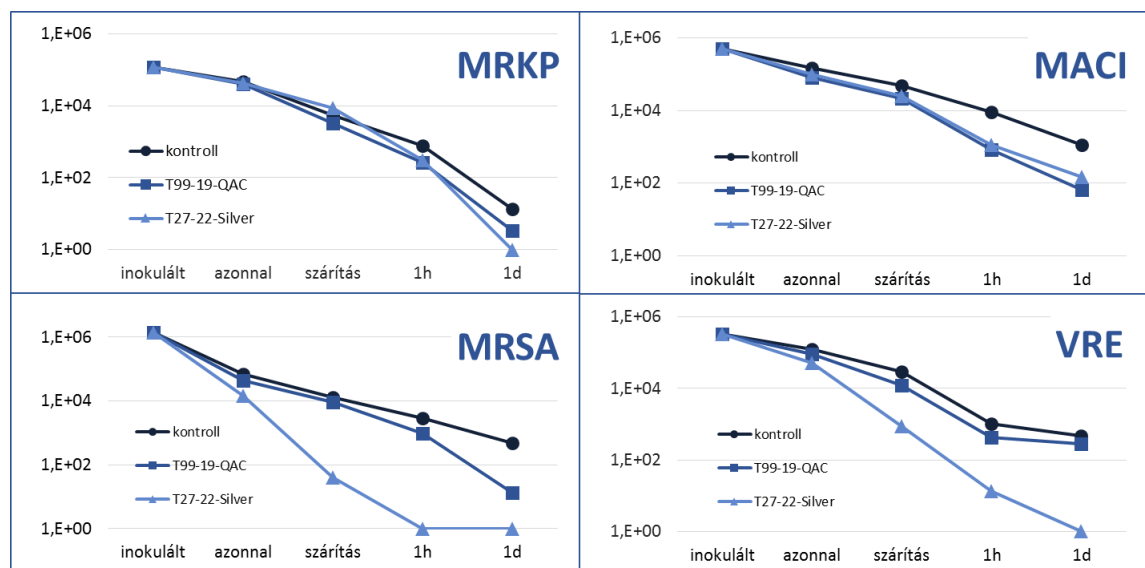
3. táblázat A: 15-15 nozokomiális MRKP, MACI, MRSA és VRE törzs MIC₅₀ és MIC_{tartomány}, illetve MBC₅₀ és MBC_{tartomány} értékei a kétféle Sanitized oldat hatóanyagával szemben: T27-22-Silver (AgCl) és T99-19-QAC (dimetil-tetradecil(3-(trimetoxiszilil)propil)ammónium-klorid). B: ATCC 25922 és ATCC 11105 *E. coli*, illetve ATCC 25923 és ATCC 6538 *S. aureus* MIC és MBC értékei a Sanitized T27-22-Silver és T99-19-QAC hatóanyaggal szemben.

A multidrog-rezisztens, Gram-negatív MRKP és MACI törzsek mindkét hatóanyagból szignifikánsan nagyobb koncentrációt viseltek el, mint a Gram-pozitív MRSA és VRE törzsek ($P < 0,01$). Az ATCC *E. coli* baktériumok a Gram-negatív és Gram-pozitív MDRB-nál is alacsonyabb MIC és MBC értékeket mutattak a T27-22-Silver hatóanyaggal szemben, ugyanakkor a T99-19-QAC oldat hasonló koncentrációban akadályozta a növekedésüket és túlélésüket, mint a MDR Gram-negatív baktériumokét (3. táblázat). Az ATCC *S. aureus* törzsek mindkét hatóanyagból a MDR Gram-pozitív törzsekhez hasonló koncentrációkat toleráltak (3. táblázat).

A Pearson-féle korreláció alapján nem találtunk összefüggést a baktériumtörzsek hatóanyagokkal szembeni MIC és MBC értéke, illetve ugyanazon hatóanyagokkal kikészített antimikrobiális felületen való túlélése között.

6.2.2 Antibakteriális textíliák előkísérlet

Az optimális inkubációs idők meghatározásához előkísérletet végeztünk MDRB-csoportonként 3-3 törzssel (Melléklet, Táblázat A-D.), négyféle inkubációs időt alkalmazva (azonnali leszedés a textilről az inokulációt követően, szárítás (labor körülmények között ~10 perc), egy óra és egy nap). A bakteriális túlélőképesség átlageredményeit a 12. ábra mutatja.



12. ábra: Multidrog-rezisztens baktériumok túlélőképessége antibakteriális textíliákon, előkísérlet. A görbék a 3-3 megvizsgált MRKP, MACI, MRSA és VRE baktériumtörzs átlagos eredményeit mutatják. Az x-tengelyen az inkubációs idő, az y-tengelyen az átlagos CFU/textil értékek láthatóak.

Az előkísérlet eredményei alapján az MRKP törzsek rendelkeztek a legalacsonyabb túlélőképességgel mindhárom megvizsgált textil felületén (12. ábra). A T99-19-QAC hatóanyaggal kikészített lepedő kismértékben csökkentette a MDRB túlélőképességét. A T27-22-Silver hatóanyag a Gram-pozitív MDRB-csoportok ellen nagyobb mértékű antibakteriális hatékonyságot mutatott, az MRSA törzseket egy óra, a VRE törzseket egy nap alatt elpusztította. Az eredmények alapján az átfogó kísérlethez egy órás (rövid távú hatékonyság) és egy napos (hosszú távú hatékonyság) inkubációs időket választottunk.

6.2.3 Antibakteriális textíliák átfogó kísérlet

6.2.3.1 Rövid távú hatás – 1 órás inkubáció

A **kontroll textílián** mind a 60 MDRB megőrizte életképességét az 1 órás inkubáció során. A négy megvizsgált MDR baktériumcsoport közül a MRKP és MRSA törzsek bizonyultak a legkevésbé ellenállóknak a kezeletlen, száraz felületen (4. táblázat).

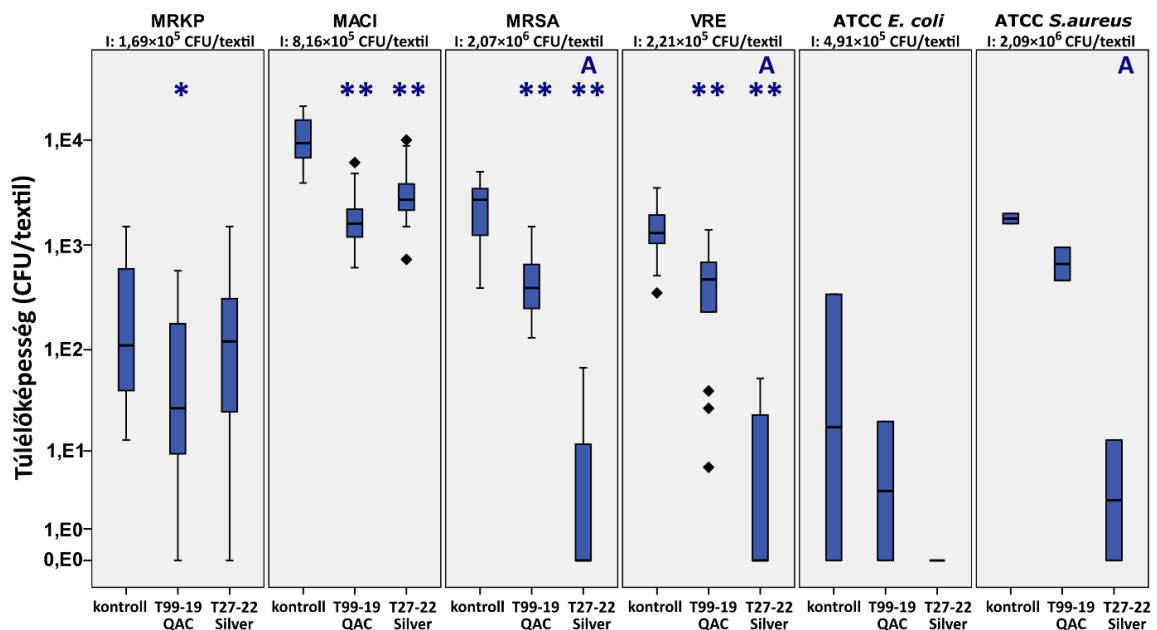
1 órás inkubáció	Redukciós Ráta Érték (R)
	Á±Sz
	kontroll
MRKP	3,0 ± 0,6
MACI	1,8 ± 0,4
MRSA	3,0 ± 0,4
VRE	2,2 ± 0,3
ATCC <i>E. coli</i>	4,3 ± 1,2
ATCC <i>S. aureus</i>	3,1 ± 0,1

4. táblázat: A Redukciós Ráta Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a kontroll textílián, baktériumcsoportonként (15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE, 2 ATCC *E. coli*, 2 ATCC *S. aureus*), **egy órás inkubáció** után.

A MRKP és MRSA törzsek Redukciós Ráta Értékei ($R_{MRKP-1h}=3,0\pm 0,6$ és $R_{MRSA-1h}=3,0\pm 0,4$) szignifikánsan ($P<0,01$) magasabbak voltak, mint a MACI és VRE törzseké ($R_{MACI-1h}=1,8\pm 0,4$ és $R_{VRE-1h}=2,2\pm 0,3$). Összehasonlítva a MACI és VRE törzsek túlélését megállapítottuk, hogy a VRE baktériumok száma szignifikánsan nagyobb arányban csökkent 1 óra alatt, a kontroll felületen ($P<0,01$). A kettő ATCC *E. coli* mutatta a legmagasabb R-értékeket ($R_{E.coli-1h}=4,3\pm 1,2$) valamennyi baktériumcsoport közül (4. táblázat). Az egy órás inkubációt követően csak az ATCC 11105 *E. coli* törzs

volt visszatenyészthető, az ATCC 25922 *E. coli* elpusztult. A két ATCC *S.aureus* a MRSA baktériumokhoz hasonló túlélést mutatott kezeletlen pamut lepedőn ($R_{S.aureus-1h}=3,1\pm 0,1$).

A 13. ábrán látható, hogy mindkét antibakteriális kikészítésű lepedő csökkentette a megvizsgált baktériumcsoportok túlélőképességét a kontroll felülethez viszonyítva. Az antibakteriális textíliák hatékonyságának mértéke azonban különbözőnek bizonyult nemcsak hatóanyagoként és baktériumcsoportonként, de az elemzéséhez használt módszertől függően is.



13. ábra: A dobozdiagram a 15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE, illetve a 2 ATCC *E. coli* és 2 ATCC *S. aureus* sztenderd túlélőképességét mutatja a kontroll és az antibakteriális pamut lepedőkön, **egy óras inkubációs idő** után. A dobozok mutatják a mediánt és az interkvartilis tartományt (IQR), a bajuszok a 75. percentilis + $1,5 \times IQR$ és a 25. percentilis + $1,5 \times IQR$ értékeket, a fekete rombuszok pedig a kiugró értékeket. A dobozdiagramok felett az átlagos inokulált baktériummennyiség olvasható. Ugyanitt jelöltük a párosított t-próba szerinti szignifikáns hatást (* $P < 0,05$; illetve ** $P < 0,01$) és az Antibakteriális Aktivitás Érték szerinti szignifikáns (A) antibakteriális hatékonyságot.

A **T99-19-QAC** hatóanyaggal kikészített lepedőn, a párosított t-teszt alapján valamennyi nozokomiális MDRB-csoport szignifikánsan alacsonyabb túlélőképességet mutatott, mint a kontroll felületen (MRKP ($P=0,02$); MACI, MRSA, VRE ($P < 0,01$) – 13. ábra). A szignifikáns hatás ellenére 12 MRKP (Á: $1,4 \times 10^2$ CFU/textil), illetve mind a 15 MACI (Á: $2,1 \times 10^3$ CFU/textil), 15 MRSA (Á: $5,1 \times 10^2$ CFU/textil) és 15 VRE (Á: $4,9 \times 10^2$ CFU/textil) törzs visszatenyészthető maradt. Összességében, a megvizsgált 60 MDRB törzsből 3 pusztult el 1 óra alatt a T99-19-QAC lepedőn. A törzsközponti

szztenderd törzsek közül az ATCC *E. coli*-k átlagosan $1,0 \times 10^1$ CFU/textil, az ATCC *S. aureus*-ok átlagosan $7,0 \times 10^2$ CFU/textil túlélőképességet mutattak a T99-19-QAC lepedőn. Az ATCC 25922 *E. coli* nemcsak a T99-19-QAC lepedőn, de a kontrollon is elpusztult egy óra alatt. Az Antibakteriális Aktivitás Értékek szerint (5. táblázat, 13. ábra) a T99-19-QAC lepedő a vizsgált körülmények között nem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot sem a MDRB, sem az antibiotikumokkal szemben érzékeny ATCC szztenderd törzsek esetében.

1 órás inkubáció	Antibakteriális Aktivitás Érték (A)	
	Á±Sz	
	T99-19-QAC	T27-22-Silver
MRKP	0,6 ± 0,6	0,3 ± 0,7
MACI	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,3
MRSA	0,7 ± 0,4	2,7 ± 0,6 *
VRE	0,7 ± 0,5	2,5 ± 0,6 *
ATCC <i>E. coli</i>	0,6 ± 0,9	1,3 ± 1,8
ATCC <i>S. aureus</i>	0,4 ± 0,1	2,7 ± 0,7 *

5. táblázat: Az Antibakteriális Aktivitás Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a kétféle antibakteriális textil (T99-19-QAC, T27-22-Silver) esetében, baktériumcsoportonként (15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE, 2 ATCC *E. coli*, 2 ATCC *S. aureus*), egy órás inkubáció után. A szignifikáns antibakteriális hatást ($2 \leq A < 3$) félkövér formázással és csillaggal (*) jelöltük.

A T27-22-Silver lepedő a Gram-negatív MDRB számát kisebb, a Gram-pozitív MDRB számát nagyobb mértékben csökkentette, mint a T99-19-QAC lepedő (13. ábra). A Gram-negatív MRKP törzsek közül 12 maradt visszatenyészthető 1 óra elteltével (Á: $3,46 \times 10^2$ CFU/textil) a T27-22-Silver lepedőn, ami sem a párosított t-teszt, sem az Antibakteriális Aktivitás Érték alapján nem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot (5. táblázat). A MACI törzsek közül mind a 15 visszatenyészthető maradt (Á: $3,59 \times 10^3$ CFU/textil) a T27-22-Silver lepedőn. A hatóanyag a párosított t-teszt alapján ugyan szignifikánsan csökkentette a MACI törzsek túlélőképességét ($P < 0,01$, 13. ábra), az A-értékek alapján azonban nem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot (5. táblázat). A Gram-pozitív MDRB ellen a T27-22-Silver lepedő mind a párosított t-teszt ($P < 0,01$), mind a A-értékek alapján ($2 \leq A < 3$) szignifikáns antibakteriális hatást mutatott (13. ábra, 5. táblázat). A 15-15 megvizsgált

törzsből 7 MRSA (Á: $1,16 \times 10^1$ CFU/textil) és 7 VRE (Á: $1,29 \times 10^1$ CFU/textil) törzs maradt visszatenyészthető. A Gram-pozitív baktériumok túlélőképessége a T27-22-Silver lepedőn szignifikánsan alacsonyabb volt, nemcsak a kontrollhoz, de a T99-19-QAC lepedőhöz hasonlítva is ($P < 0,01$). A törzsközponti törzsek közül mind a két ATCC *E. coli* törzs elpusztult a T27-22-Silver lepedőn, igaz az ATCC 25922 *E. coli* a kontroll lepedőről sem volt visszatenyészthető. A két ATCC *S. aureus* törzs közül az ATCC 6538 nemcsak 1 óra, de már 10 perc alatt elpusztult a T27-22-Silver lepedőn. Az A-értékek alapján a T27-22-Silver szignifikáns hatékonyságot mutatott az ATCC *S. aureus*-ok ellen (13. ábra, 5. táblázat).

6.2.3.2 Hosszú távú hatás – 1 napos inkubáció

A **kontroll textilián** a megvizsgált 60 MDRB törzs közül 55 megőrizte életképességét az egy napos inkubáció során. Mind az 5 elpusztult törzs MRKP volt. A MRKP törzsek a legmagasabb R-értékeket mutatták a kontroll felületen a négy megvizsgált MDRB-csoport közül (6. táblázat).

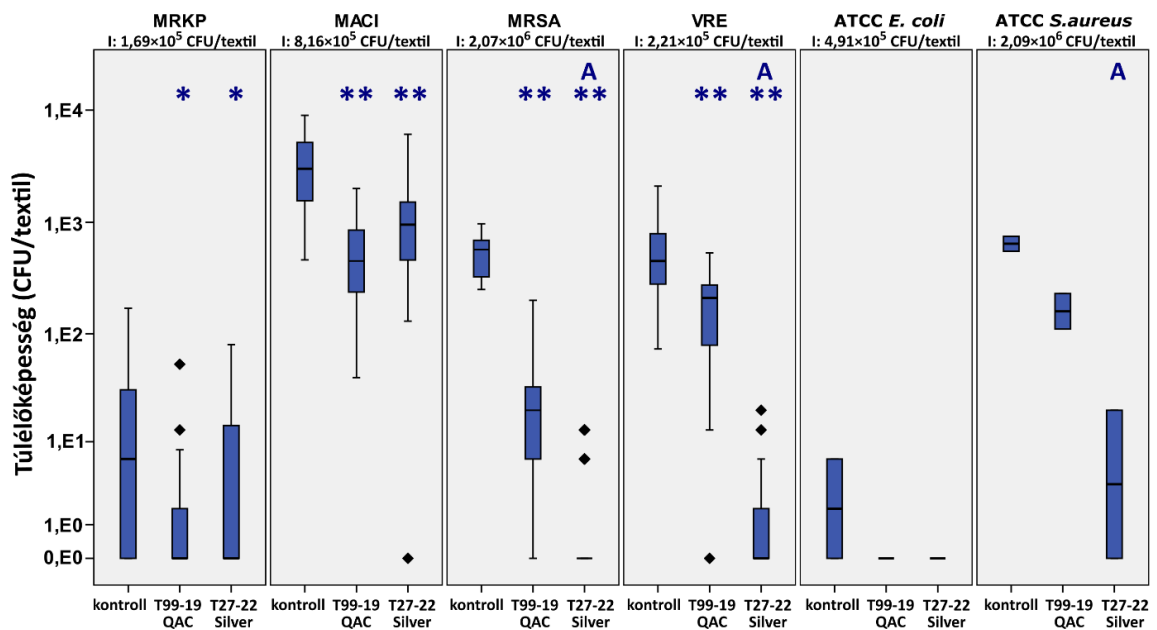
1 napos inkubáció	Redukciós Ráta Érték (R)
	Á±Sz
	kontroll
MRKP	4,3 ± 0,6
MACI	2,3 ± 0,5
MRSA	3,6 ± 0,3
VRE	2,7 ± 0,4
ATCC <i>E. coli</i>	5,1 ± 0,0
ATCC <i>S. aureus</i>	3,5 ± 0,1

6. táblázat: A Redukciós Ráta Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a kontroll textilián, baktériumcsoportonként (15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE, 2 ATCC *E. coli*, 2 ATCC *S. aureus*), **egy napos inkubáció** után.

A MRKP ($R_{MRKP-1d}=4,3 \pm 0,6$) és MRSA ($R_{MRSA-1d}=3,6 \pm 0,3$) törzsek R-értékei szignifikánsan magasabbak voltak, mint a MACI ($R_{MACI-1d}=2,3 \pm 0,5$) és VRE ($R_{VRE-1d}=2,7 \pm 0,4$) törzsek esetében kapott eredmények ($P < 0,01$). A MRKP törzsek szignifikánsan nagyobb mértékben pusztultak el a kezeletlen lepedőn, mint a MRSA baktériumok ($P < 0,01$). Az ATCC *E. coli* törzsek valamennyi megvizsgált baktériumcsoport közül a legmagasabb R-értékeket ($R_{E. coli-1d}=5,1 \pm 0,0$) mutatták egy nap elteltével a kontroll lepedőn (6. táblázat). A két ATCC *S. aureus* a MRSA

baktériumokhoz hasonló mértékű túlélőképességgel ($R_{S. aureus-1h}=3,5\pm 0,1$) rendelkezett a kezeletlen, pamut lepedőn.

A **T99-19-QAC** lepedőn 4 MRKP (Á: $5,4\times 10^0$ CFU/textil), 12 MRSA (Á: $3,2\times 10^1$ CFU/textil), 14 VRE (Á: $2,0\times 10^2$ CFU/textil) és mind a 15 MACI (Á: $6,6\times 10^2$ CFU/textil) törzs megőrizte életképességét az egy napos inkubáció során. A párosított t-teszt alapján a T99-19-QAC lepedő szignifikánsan csökkentette mind a négy MDRB-csoport túlélőképességét a kontroll felülethez viszonyítva (MRKP: $P=0,02$; MACI, MRSA, VRE: $P<0,01$, 14. ábra).



14. ábra: A dobozdiagram a multidrog-rezisztens törzsek (15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE), illetve a 2 ATCC *E. coli* és 2 ATCC *S. aureus* sztenderd túlélőképességét mutatja a kontroll és az antibakteriális pamut lepedőn **egy napos inkubációs idő** után. A dobozok mutatják a mediánt és az interkvartilis tartományt (IQR), a bajszok jelzik a 75. percentilis + $1,5\times IQR$ és a 25. percentilis + $1,5\times IQR$ értékeket. A fekete rombuszok mutatják a kiugró értékeket. A dobozdiagramok felett az átlagos inokulált baktériummennyiség olvasható. Ugyanitt jelöltük a párosított t-próba szerinti szignifikáns hatást ($*P<0,05$; illetve $**P<0,01$) és az Antibakteriális Aktivitás Érték szerinti szignifikáns (A) antibakteriális hatékonyságot.

Ugyanakkor az Antibakteriális Aktivitás Értékek alapján a T99-19-QAC nem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot egyik MDRB-csoport ellen sem (7. táblázat, 14. ábra). Az $A_{T99-19-QAC}$ -értékek a MRSA törzsek esetén voltak a legmagasabbak. A T99-19-QAC lepedő a megvizsgált 15 MRSA törzsből 3-nál mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot. Az ATCC *E. coli* törzsek közül csak az ATCC 11105 volt visszatenyészthető egy nap után a kontroll textilről, de a T99-19-QAC lepedőn

elpusztult. A két ATCC *S. aureus* a MRSA törzseknél nagyobb túlélőképességet (Á: $1,7 \times 10^2$ CFU/textil) mutatott a T99-19-QAC lepedőn. Az A-értékek alapján a T99-19-QAC lepedő nem mutatott szignifikáns hatékonyságot a törzsközponti törzsekkel szemben (7. táblázat).

1 napos inkubáció	Antibakteriális Aktivitás Érték (A)	
	Á±Sz	
	T99-19-QAC	T27-22-Silver
MRKP	0,6 ± 0,5	0,4 ± 0,6
MACI	0,8 ± 0,3	0,6 ± 0,6
MRSA	1,6 ± 0,7	2,6 ± 0,3 *
VRE	0,6 ± 0,5	2,4 ± 0,5 *
ATCC <i>E. coli</i>	0,4 ± 0,6	0,4 ± 0,6
ATCC <i>S. aureus</i>	0,6 ± 0,1	2,2 ± 0,8 *

7. táblázat: Az Antibakteriális Aktivitás Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a kétféle antibakteriális textil (T99-19-QAC, T27-22-Silver) esetében, baktériumcsoportonként (15 MRKP, 15 MACI, 15 MRSA, 15 VRE, 2 ATCC *E. coli*, 2 ATCC *S. aureus*), egy napos inkubáció után. A szignifikáns antibakteriális hatást ($2 \leq A < 3$) félkövér formázással és csillaggal (*) jelöltük.

A **T27-22-Silver** lepedő nagyobb antibakteriális hatékonyságot mutatott a Gram-pozitív, mint a Gram-negatív MDRB-csoportok ellen (7. táblázat, 14. ábra). Ugyan szignifikánsan csökkentette a MACI törzsek túlélőképességét ($P < 0,01$), 14 MACI törzs visszatenyészhető maradt a T27-22-Silver lepedőről (Á: $1,4 \times 10^3$ CFU/textil). A kontroll textilián legalacsonyabb túlélőképességet mutató MRKP baktériumok közül is visszatenyészhető maradt 5 törzs (Á: $1,4 \times 10^1$ CFU/textil) a T27-22-Silver textil felületéről. Az A-értékek megerősítik a T27-22-Silver hatóanyag Gram-negatív MDRB elleni alacsony antibakteriális hatékonyságát (7. táblázat). A megvizsgált 30 Gram-pozitív MDRB törzsből 24 elpusztult a T27-22-Silver lepedőn. Mindössze 2 MRSA (Á: $1,3 \times 10^0$ CFU/textil) és 4 VRE (Á: $3,1 \times 10^0$ CFU/textil) maradt visszatenyészhető. A T27-22-Silver lepedő hatékonyságát a párosított t-teszt ($P < 0,01$) és az A-értékek ($2 \leq A < 3$) is megerősítették (7. táblázat). Az ATCC 11105 *E. coli* és ATCC 6538 *S. aureus* már 1 óra, illetve 10 perc alatt elpusztult a T27-22-Silver lepedőn. Az ATCC 25923 *S. aureus* azonban egy nap elteltével is visszatenyészhető maradt ($2,0 \times 10^1$

CFU/textil). Az A-értékek alapján a T27-22-Silver szignifikáns antibakteriális hatékonyságot mutatott az ATCC *S. aureus* törzsekkel szemben (7. táblázat, 14. ábra).

6.2.3.3 Fajon belüli túlélési különbségek

A megvizsgált MDRB-at klonalitás, illetve az antibiotikum-rezisztenciamechanizmusok alapján csoportosítottuk. A fajon belüli csoportok túlélőképességét összehasonlítottuk a kezeletlen és a kétféle antimikrobiális lepedőn. A CC1 klonális komplexhez tartozó MACI törzsek szignifikánsan magasabb túlélőképességet mutattak a kezeletlen, kontroll lepedőn, mint a CC2 MACI törzsek ($P < 0,01$, 1 óra, 1 nap). Ugyanakkor a T27-22-Silver lepedő szignifikánsan magasabb antibakteriális hatékonysággal rendelkezett a CC1 MACI törzsekkel szemben ($P < 0,01$, 1 óra, 1 nap). Az elsősorban közösségben szerzett fertőzéseket okozó CA-MRSA törzsek szignifikánsan magasabb túlélőképességet mutattak kezeletlen pamut lepedőn, mint a főként nosokomiális fertőzéseket okozó HA-MRSA törzsek ($P = 0,02$, 1 nap). A T99-19-QAC lepedő szignifikánsan magasabb antibakteriális hatékonyságot mutatott a *vanB* VRE törzsekkel szemben a *vanA* operont hordozókhoz viszonyítva ($P < 0,01$, 1 óra, 1 nap). A MRKP törzsek túlélőképessége között nem találtunk szignifikáns különbségeket sem a klonalitásuk, sem az antibiotikum-rezisztenciamechanizmusaik alapján történő csoportosítás szerint.

6.3 Ezüstrezisztencia

6.3.1 Ezüst-nitrát szoktatási kísérlet eredménye

Megvizsgáltuk mind a 30 Gram-negatív MDRB törzs AgNO_3 oldattal szembeni MIC és MBC értékét. Az AgNO_3 oldat baktericidnek bizonyult valamennyi eredeti MRKP és MACI törzssel szemben (8. táblázat).

	AgNO_3	
	MIC ₅₀ (MIC _{tartomány})	MBC ₅₀ (MBC _{tartomány})
szülő MRKP	4 (4 – 8) mg/l 23,5 (23,5 – 47) μM	8 (4 – 8) mg/l 47 (23,5 – 47) μM
Ag⁺-rezisztens MRKP	>8500 (4250 – >8500) mg/l >50000 (25000 – >50000) μM	>8500 (4250 – >8500) mg/l >50000 (25000 – >50000) μM
MACI	4 (2 – 16) mg/l 23,5 (11,75 – 94) μM	4 (2 – 16) mg/l 23,5 (11,75 – 94) μM

8. táblázat: A 15 szülő MRKP, 12 ezüst-rezisztens MRKP, és a 15 (nem szoktatható) MACI törzs MIC₅₀ és MIC_{tartomány}, illetve MBC₅₀ és MBC_{tartomány} értékei AgNO_3 -tal szemben.

A szoktatási kísérlet során 15 MRKP törzsből 12-nél (80%) sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni. A szoktatott törzsek az eredeti MIC értéküknél akár 2500× magasabb ezüst koncentráció mellett is képesek voltak szaporodni (8. táblázat). Az ezüst-rezisztens MRKP törzsek MIC-értéke Ag⁺-ionok hiányában is stabil maradt az ezüstmentes véres agarra történő 25. átszélesztés után is.

Az ezüst-rezisztens fenotípust mutató, szoktatott törzsek közül tizenegy ún. magas kockázatú klónokhoz (6 db ST15; 2 db ST258, 3 db ST11), egy pedig a minor ST274 klónhoz tartozott. A magas kockázatú klónokhoz tartozó baktérium izolátumok jellemzője a multidrog-rezisztencia, a széleskörű földrajzi elterjedés és a változatos betegpopulációkban való előfordulás. A minor klónokhoz tartozó baktérium izolátumok ritkán mutatnak multidrog-rezisztenciát és elterjedésük specifikus földrajzi helyekre vagy betegpopulációkra korlátozódik. Ugyanakkor egy ST15-ös, egy ST25-ös és egy ST274-es szekvencia típusú MRKP törzsünkben nem sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni a kísérlet során.

A MACI törzseknél a szoktatási kísérlet során nem sikerült AgNO₃ MIC emelkedést kiváltani.

6.3.2 Ezüstrezisztencia mechanizmusának vizsgálata (*K. pneumoniae*)

Az ezüstrezisztencia háttérében álló molekuláris mechanizmusokat öt szülő – ezüst-rezisztens leszármazott törzspár (K5149-S/R, K6004-S/R, K5132-S/R, K5442-S/R, K5024-S/R) és két nem szoktatható törzs (K5825, K5312) genetikai állományának összehasonlítása révén vizsgáltuk. A törzseket klonális besorolásuk és a hordozott antibiotikum-rezisztenciamechanizmusok alapján választottuk ki. A törzsek adatait a 9. táblázat mutatja. Az öt szülő – ezüst-rezisztens törzspár közül négy globálisan elterjedt szekvencia típusba tartozott (kettő ST15, egy ST11, egy ST258) egy pedig az ST274-es minor klón tagja volt. A PFGE vizsgálatok eredménye alapján a szülő és az ezüst-rezisztens leszármazott törzsek megkülönböztethetetlenek voltak. A két teljes genom szekvenálással (WGS) megvizsgált törzs, melyben nem sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni az ST15 nemzetközi, illetve az ST25 minor klón tagja (9. táblázat). A törzsek főbb antibiotikum-rezisztenciamechanizmusait az OKI-ban elvégzett korábbi vizsgálatokból már ismertük [174, 180-184], majd a WGS eredményei alapján ezeket kiegészítettük (9. táblázat).

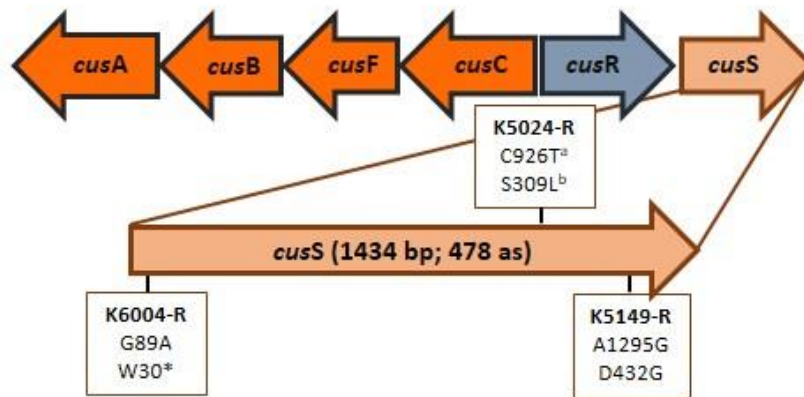
Baktérium törzs kódja		K5149	K6004	K5825	K5442	K5132	K5024	K5312	
Izolálás éve		2005.	2012.	2012.	2005.	2009.	2008.	1998.	
Klonális besorolás szekvencia típus		CG14/15 ST15	CG14/15 ST15	CG14/15 ST15	CG258 ST11	CG258 ST258	minor ST274	minor ST25	
Szerzett antibiotikum rezisztencia gének és mutációk	aminoglikozid	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i> , <i>aph(3'')-Ib</i>	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aac(6')-Ib</i> <i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(3)-IIa</i> , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>aac(6')Ib-cr</i>	<i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>ant(3'')-Ia</i>	<i>aph(3')-Ia</i> , <i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(3)-IIa</i>	<i>aac(3)-IIa</i>	
	β-laktám	ESBL	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>bla_{CTX-M-15}</i>	<i>bla_{SHV-12}</i>	<i>bla_{SHV-2a}</i>	<i>bla_{SHV-2a}</i>
		karbapenemáz		<i>bla_{VIM-4}</i>	<i>bla_{OXA-162}</i>		<i>bla_{KPC-2}</i>		
		egyéb	<i>bla_{OXA-1}</i>	<i>bla_{OXA-1}</i> , <i>bla_{TEM-1}</i>	<i>bla_{OXA-1}</i>	<i>bla_{OXA-1}</i> , <i>bla_{TEM-1}</i>	<i>bla_{OXA-9}</i> , <i>bla_{TEM-1}</i>	<i>bla_{TEM-1}</i>	<i>bla_{TEM-1}</i>
	fluorokinolon	mutációk <i>gyrA QRDR</i> <i>parC QRDR</i>	S83F, D87A S80I	S83F, D87A S80I	S83F, D87A S80I	S83F, D87A S80I	S83I S80I	S83Y	
		PMQR	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>	<i>aac(6')-Ib-cr</i>			
	MLS (makrolid, linkóزامid, sztreptogramin B)		<i>mph(E)</i> , <i>msr(E)</i>		<i>mph(A)</i>				
	klóramfenikol	<i>catB4</i> , <i>catA1</i>	<i>catB4</i>	<i>catB4</i> , <i>catA1</i>	<i>catB4</i> , <i>catA1</i>				
	szulfonamid		<i>sul1</i> , <i>sul2</i>		<i>sul1</i>			<i>sul1</i>	
	tetraciklin	<i>tetA</i>		<i>tetA</i>			<i>tetA</i>	<i>tetA</i>	
trimethoprim		<i>drfA14</i>	<i>drfA30</i>	<i>drfA12</i>				<i>drfB3</i>	
Plazmid replikon típusok		IncFIB(K), IncFII(K), IncR, IncFII, ColpVC	IncFIB(K), IncR, IncFII, IncFIB	IncFII(K), IncL/M, IncFIB, ColpVC	IncFII(K), IncFIB(K), IncR, IncFIB	IncFII(K), IncX3, ColRNAI, IncFIB(K)	IncL/M	IncL/M	

9. táblázat: A teljes genom szekvenálás során megvizsgált *K. pneumoniae* törzsek (**dőlt** betűsekben nem sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni). ESBL: extended-spectrum β-lactamase, QRDR: quinolone resistance determining region, PMQR: plasmid-mediated quinolone resistance

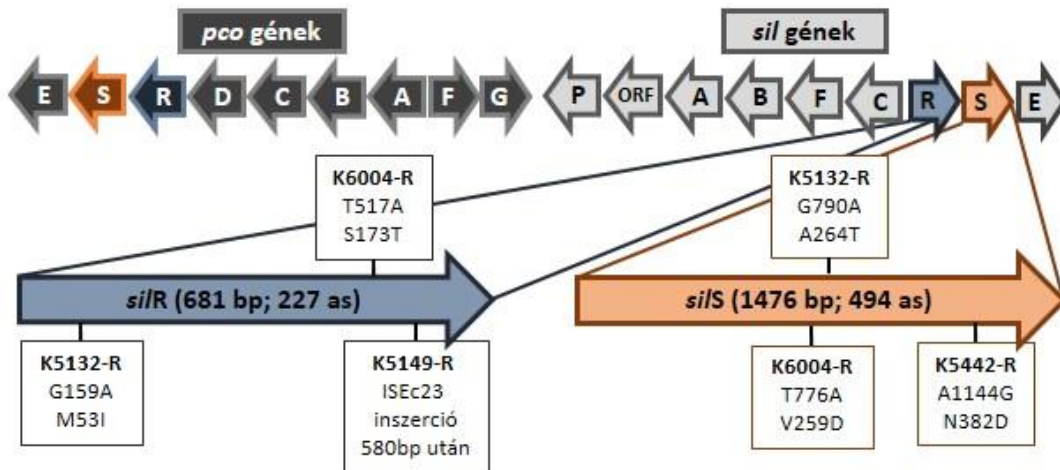
6.3.2.1 A MRKP törzsek ezüst-homeosztázis rendszere és mutációi

Mindegyik vizsgált MRKP törzs rendelkezett a kromoszómálisan kódolt *cusCFBARS* rendszerrel, és négy szülő – ezüst-rezisztens leszármazott törzspár hordozta plazmidon a CHASRI rendszert (10. táblázat, 15. ábra). A CHASRI rendszer felépítése azonos volt mindegyik MRKP törzsben a szekvencia típusuktól függetlenül (15. ábra/B). A két minor klónba tartozó törzs (K5024: ST274 és K5312: ST25) és az ST15 globálisan elterjedt klónba tartozó K5825 törzs nem rendelkezett CHASRI-val.

A. kromoszómális *CusCFBARS* system:



B. CHASRI rendszer:



15. ábra: Az ezüst-homeosztázis és rezisztenciarendszer sematikus ábrája az ezüst-rezisztens törzsekben talált mutációk jelölésével. Az „a” és „b” felsőindexekkel jelölt sorok az egy pontos nukleotid polimorfizmusokat és az ezek következtében bekövetkező misszensz (aminosavcsere) és nonszensz (* stop kodon) mutációkat jelölik.

Törzs kódja	AgNO ₃ MIC	Kromoszóma <i>cusS</i> mutációja	Plazmid: CHASRI			Görbe alatti terület – AUC (area under the curve)		
			Igen Nem	Mutáció <i>si/S</i>	Mutáció <i>si/R</i>	BHI AgNO ₃ nélkül	5 µM, 0,9 mg/L AgNO ₃	315 µM, 54 mg/L AgNO ₃
K5149-S	23.5 µM 4 mg/L	D432G	I	----	inszerció ISEc23	342	169	n.n.
K5149-R	>50 000 µM >8500 mg/L					326	305	124
K6004-S	47 µM 8 mg/L	W30*	I	V259D	S173T	380	227	n.n.
K6004-R	>50 000 µM >8500 mg/L					391	260	247
K5132-S	23.5 µM 4 mg/L	----	I	A264T	M53I	397	108	n.n.
K5132-R	>50 000 µM >8500 mg/L					388	276	172
K5442-S	47 µM 8 mg/L	----	I	N382D	-----	400	177	n.n.
K5442-R	>50 000 µM >8500 mg/L					360	224	228
K5024-S	23.5 µM 4 mg/L	S309L	N	-----	-----	382	15	n.n.
K5024-R	>50 000 µM >8500 mg/L					338	204	204
K5825	47 µM 8 mg/L	-----	N	-----	-----	353	40	n.n.
K5312	23.5 µM 4 mg/L	-----	N	-----	-----	397	48	n.n.

10. táblázat: *K. pneumoniae* szülő és ezüst-rezisztens leszármazott törzsek jellemzői. Az oszlopok mutatják a törzsek AgNO₃ MIC értékeit, az ezüst-homeosztázis rendszer részeit és mutációit, illetve a törzsek fitnessét három különböző AgNO₃ koncentráció mellett. A szimbólumok, rövidítések jelentése: „*” – stop kodon; „n.n.” – nincs növekedés; „MIC” – minimális gátló koncentráció; „BHI” – agy- és szív kivonat tápfeles.

A szülő törzsek AgNO_3 MIC értékei hasonlóak voltak függetlenül a CHASRI rendszer jelenlététől vagy hiányától (10. táblázat). Valamennyi szülő törzs ezüst-érzékeny fenotípust mutatott. Mind a négy CHASRI hordozó MRKP-ban és a CHASRI-val nem rendelkező K5024 törzsből sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni. A rezisztens-törzsek MIC értékei között nem találtunk különbséget (10. táblázat).

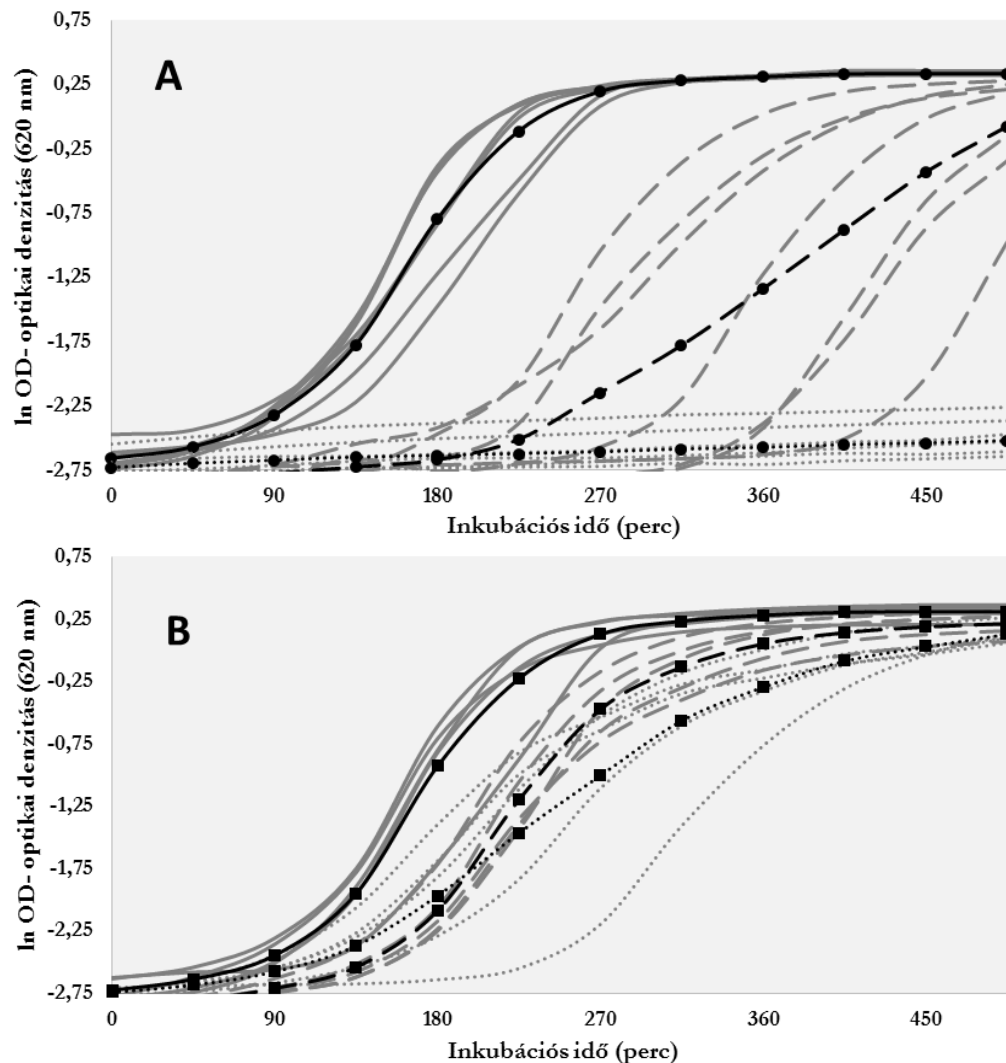
Összehasonlítva a szülő és az ezüst-rezisztens leszármazott törzsek genomját, a kromoszómális CusCFBARS rendszer *cusS*, illetve a plazmidon kódolt CHASRI rendszer *silS* és *silR* génjeiben találtunk mutációkat (10. táblázat, 15. ábra). Mindhárom génben találtunk különböző aminosavcsere eredményező misszensz mutációkat, a *cusS* génben egy alkalommal stop kodon kialakulásával járó nonszensz mutációt, illetve a *silR* génben egy esetben egy inszerciós elem (IS) addícióját. Egyik törzs esetében sem történt mutáció a Pco-rendszer génjeiben. A K5149-S/R, K6004-S/R, K5132-S/R és K5442-S/R törzsek CHASRI rendszerének nukleotid szekvenciáit feltöltöttük a GenBank adatbázisába (azonosító számok: MH130217 - MH130224).

6.3.2.2 Növekedési görbék összehasonlítása

A háromféle AgNO_3 koncentráció mellett felvett növekedési görbéket a 16. ábra, a görbék alatti területeket (area under the curve – AUC) a 10. táblázat mutatja. A szülő törzsek fitnessze között ezüst nélküli közegben nem találtunk különbséget. A MIC értékeiknél alacsonyabb koncentrációjú ezüst-nitrát jelenléte (sub-MIC: 0,9 mg/l, 5 μM AgNO_3) csökkentette a szülő törzsek AUC értékeit. Sub-MIC koncentrációjú AgNO_3 jelenlétében a növekedési görbék exponenciális fázisának kezdete időben eltolódott az ezüstmentes BHI levesben mért adatokhoz képest (16. ábra A). A törzsek növekedési görbéi különböző mértékben tolódtak el, AUC értékeik nagyobb különbségeket mutatnak, mint Ag^+ -mentes táplevesben. A CHASRI rendszert nem hordozó három törzs mutatta a legalacsonyabb AUC értékeket és az exponenciális növekedési fázis legnagyobb késését (16. ábra A, 10. táblázat). A szülő törzsek növekedését a MIC értékeik feletti ezüst koncentráció (supra-MIC: 54 mg/l AgNO_3 , 315 μM Ag^+) teljes mértékben gátolta.

Az ezüst-rezisztens MRKP törzsek a szülő törzsekhez hasonló AUC értékeket mutattak AgNO_3 nélküli BHI levesben (10. táblázat). Az AgNO_3 jelenléte koncentrációtól függetlenül kis mértékben csökkentette a törzsek AUC értékeit, és késleltette a növekedési görbék exponenciális fázisát (16. ábra B). Az AUC értékek csökkenésének és a növekedési görbék eltolódásának mértéke azonban nem mutatott összefüggést az

AgNO₃ koncentráció nagyságával. Az 5 μM és 315 μM Ag⁺ koncentrációjú BHI levesben mért görbék átfednek egymással a K5149-R törzs kivételével (16. ábra B). A K5149-R törzs növekedése később a legnagyobb mértékben 315 μM Ag⁺ jelenlétében, ami az AUC érték jelentős csökkenéséhez vezetett az ezüstmentes közeghez viszonyítva (10. táblázat). A növekedés exponenciális fázisának késői kezdete után végül ez a törzs is elérte azt a sejtsűrűséget (optikai denzitást), amit az Ag⁺-mentes BHI levesben.



16. ábra: A MRKP szülő (A) és az ezüst-rezisztens leszármazott törzsek (B) növekedési görbéi háromféle koncentrációjú AgNO₃-t tartalmazó BHI-levesben mérve (folyamatos vonal – AgNO₃ nélkül; szaggatott vonal – 0,9 mg/l (5 μM) AgNO₃; pontozott vonal 54 mg/l (315 μM) AgNO₃). A szürke színű vonalak a törzsek egyedi eredményeit, a fekete vonalak a törzsek átlag értékeit mutatják.

Összehasonlítva a szülő és ezüst-rezisztens törzspárok AUC értékeit ezüstmentes BHI levesben, nem találtunk jelentős különbségeket. Az ezüstrezisztencia megjelenése tehát nem csökkentette a baktériumok fitnessét (10. táblázat). Ezüstionok jelenlétében a

rezisztens törzsek egyértelmű növekedési előnnyel rendelkeztek a szülő törzsekhez képest.

6.3.2.3 Túlélőképesség a kontroll és a T27-22-Silver lepedőn

Megvizsgálva a szülő és Ag-rezisztens MRKP törzspárok túlélőképességét kontroll és T27-22-Silver antibakteriális lepedőn nem találtunk szignifikáns különbségeket (11. táblázat).

Inkubációs idő	Törzsek	Redukciós Ráta Érték (R)	Antibakteriális Aktivitás Érték (A) Silver T27-22
1 óra	MRKP szülők	3,0 ± 0,8	0,6 ± 0,6
	MRKP Ag-rez.	3,5 ± 1,1	1,0 ± 0,9
1 nap	MRKP szülők	4,0 ± 1,1	0,7 ± 0,7
	MRKP Ag-rez.	4,4 ± 1,1	0,6 ± 0,9

11. táblázat: A Redukciós Ráta Értékek átlaga (Á) és szórása (Sz) a kontroll textilen MRKP szülő és MRKP Ag-rezisztens leszármazott törzsek esetében, **egy órás és egy napos inkubáció után.**

6.3.2.4 Konjugáció eredménye

A konjugáció a K6004-R (ST15) és a K5442-R (ST11) donor törzsek esetében volt sikeres. A recipiens *E. coli* K12 J-53^{Rif} törzs MIC értéke 4 mg/l (23,5 µM) AgNO₃, a két transzkonjugáns törzsé (TR6004 és TR5442) 8500 mg/l (50 000 µM) AgNO₃ volt. A TR6004 és a TR5442 törzsekből izolált ezüst-rezisztenciáért felelős plazmidok különbözőnek bizonyultak (**p6004** – méret: 197 kbp, replikon típus: IncFII és IncFIB(K), pMLST: K9:A-:B-; **p5442** – méret: 160 kbp, replikon típus: IncFII(K) és IncFIB(K), pMLST: K1:A-:B-). A BLAST szekvenciaillesztés az általunk izolált p6004 és a GenBank adatbázisában található p69-1 (azonosító: CP025457.1) plazmidok között 99%-os hasonlóságot mutatott 82%-os lefedettség mellett. A p5442 és a pKPN3 (GenBank: CP011577.1) plazmidok között 99%-os hasonlóságot és 92%-os lefedettséget találtunk. A p5442 plazmid a pKPN3-hoz hasonlóan antibiotikum-rezisztenciagéneket is hordozott (*aadA2*, *sul1*, *dfrA12*, *catA1*), többségüket egy I-es osztályú integronon (In27 integron szerkezete: 5'CS - *dfrA12* – *gcuF* - *aadA2* - *qacEΔ1* - *sul1* - *orf5Δ* -3'CS). A p6004 és a p5442 plazmidokon is azonosítottuk a RelBE II típusú Toxin-Antitoxin (TA) rendszert.

7 MEGBESZÉLÉS

7.1 MDRB túlélése textil felületeken

Számos tényező befolyásolhatja a baktériumok túlélőképességét az élettelen felületeken. A befolyásoló tényezők lehetnek a mikroorganizmussal (nemzetség, faj, klón, törzs), illetve a környezettel (felület jellemzői, relatív páratartalom, hőmérséklet, szennyezőanyagok, antimikrobiális bevonatok stb.) kapcsolatosak [135]. Éppen ezért kutatásunk során alapvető lépés volt a baktériumcsoportok és a vizsgált körülmények szempontjából is optimális inkubációs idők kiválasztása. Az optimális inkubációs időnek elegendő hosszúnak kell lennie ahhoz, hogy a vizsgált környezeti körülmény hatása érvényesülhessen, relevánsnak kell lennie a nozokomiális fertőzések terjedése szempontjából és megfelelőnek kell lennie az adott MDRB-csoport túlélőképességéhez. A mikrobiális kontamináció terjedésének vizsgálatához Oelberg és mtsai. karfiol mozaikvírussal inokulálták egy intenzív osztály egyik telefonkagylóját [185]. Négy óra után a markert nemcsak az intenzív osztály minden helyiségében, de azon kívül (nővérszoba, öltöző, pihenőszoba) is kimutatták. Kisebb arányban, de 7 nap után is megtalálták a markert a vizsgált felületeken. A kontamináció gyors terjedése és napokig tartó fennmaradása megmagyarázhatja, hogy egy nyolcórás műszakot követően Burden és mtsai. miért nem találtak különbséget a nap elején még frissen mosott, illetve a korábban már hordott munkaruhák kontaminációjának mértékében [186]. A kórokozók terjedése és fennmaradása, a textíliák (pl. ágynemű, hálóruga, törölköző) cseréjének kórházi rutinja alapján úgy gondoljuk, hogy a nozokomiális fertőzéseket okozó kórokozók textíliákon való túlélésének vizsgálatához mind a néhány órás, mind a néhány napos inkubációs idők alkalmazása indokolt lehet. Ezen időtartamon belül a vizsgált MDRB-csoport átlagos túlélőképessége a meghatározó. Ezért az optimális inkubációs idők kiválasztásához kisszámú törzssel előkísérleteket végeztünk. A statisztikai összehasonlítás miatt kiemelkedően fontos volt a baktériumok túlélőképessége az adott kísérlet kontroll felületén. Mindezen megfontolások alapján a környezeti körülmények vizsgálatához MRKP törzsek esetében 1 napos, MRSA törzsek esetében 3 napos, MACI és VRE törzsek esetében pedig 7 napos inkubációs időt választottunk. Az antibakteriális hatóanyagok rövid-, és hosszú távú hatásának vizsgálatához 1 órás, illetve 1 napos inkubációs idő mellett döntöttünk minden baktériumcsoport esetében.

A következő lépés a bakteriális inokulum csíraszámának meghatározása volt. Az irodalmi adatok alapján a nagyobb bakteriális inokulum a baktériumok hosszabb túlélését eredményezheti [132, 187, 188]. A fertőzés valószínűségét növelheti a nagyobb csíraszám, de már kevés kórokozó is veszélyt jelenthet például invazív beavatkozások esetén. Kísérleti eredmények igazolják, hogy 10-15 CFU *S. aureus* is elegendő lehet gennyes gyulladás és tályog kialakulásához, ha a beavatkozás közben a bőr megsérül (pl. seb összevarrása, kanül használata) [120, 189, 190]. Egy kvantitatív vizsgálatban az ápolónők kezén, kesztyűjén 10-100 CFU csíraszámokban mutattak ki kórokozókat [120]. A kórházi textíliák nagyobb mértékben is szennyezettek lehetnek. Malnick és mtsai. egy-éjszakai használat után 0-10⁴ CFU/cm² csíraszámokban izoláltak baktériumokat a lepedők és hálóruhák felületéről [191]. Kontaminált sebkötöző textíliákon 10⁸ CFU/cm²-es nagyságrendben is kimutattak patogéneket [188, 192]. Kísérleteink során 10⁵-10⁶ CFU csíraszámokban inokuláltuk a baktériumtörzseket a vizsgált felületekre, ami 5×10⁵ CFU/cm², illetve 8×10⁴ CFU/cm² csíraszámot eredményezett a törölköző, illetve a vizsgált kezeletlen és antibakteriális lepedők felületén. Ezek kórházi körülmények között releváns csíraszámok, amik minden vizsgált baktériumcsoport számára biztosítanak néhány nap túlélést, lehetővé téve a környezeti tényezők hatásának mérését.

Az előkísérletek során, közvetlenül az inokulációt követően lemostuk a baktériumsejteket a vizsgált textilfelületekről. Nem találtunk szignifikáns különbségeket a visszanyerhető CFU/textil értékekben. Vagyis az inkubáció utáni eltérő bakteriális csíraszám oka a különböző túlélőképesség, nem pedig az egyes felületekhez történő eltérő erősségű adhézió.

7.1.1 Kezeletlen, 100% pamut lepedő

Vászonkötésű, 100% pamut lepedőt használtunk kontrollként a bakteriális túlélőképesség vizsgálatához mind a környezeti tényezők hatásának, mind az antibakteriális kikészítésű textíliák hatékonyságának vizsgálatakor. Az eredmények megmutatták a négy MDRB-csoport túlélőképességét száraz, kezeletlen pamut felületen.

Számos tanulmány állítja, hogy a textíliák, különösen a természetes anyagokból készültek (pl. pamut) kiváló környezetet biztosítanak a baktériumok fennmaradásához, mi több, szaporodásához [144, 193-197]. Messaud és mtsai. kísérletében az *E. coli* és

Listeria innocua izolátumok csíraszámát két nagyságrendet növekedett a kezeletlen pamut-poliészter textílián egy napos inkubáció alatt [144]. Paladini és mtsai. a baktériumok 172%-os növekedését mérték kezeletlen pamut kötszeren, de még az ezüsttartalmú textíliákon is 31%-os, illetve 28%-os csíraszám növekedést tapasztaltak [193]. A hasonló eredményt mutató tanulmányok során a hatékonyságvizsgálatot nagy mennyiségű táplevesben végzik, így véleményünk szerint a baktériumok nem a textília, hanem a tápleves anyagait hasznosítva növekednek. Kísérletünkben 60 MDRB törzs és 4 antibiotikumokkal szemben érzékeny, ATCC sztenderd túlélőképességét vizsgáltuk kezeletlen pamut lepedőn. Megállapítottuk, hogy a baktériumok nem képesek szaporodni a textíliák felületén a vizsgált, száraz körülmények között, mi több, csíraszámuk folyamatosan csökken.

Kísérleteink során a megvizsgált 60 MDRB törzsből egy óra elteltével mind a 60, egy nap elteltével 55 volt visszatenyészthető kezeletlen, 100% pamut lepedőről. A négy MDRB-csoport közül az MRKP törzsek mutatták a legalacsonyabb, a MACI törzsek a legmagasabb túlélőképességet. Eredményeink alapján valamennyi MDRB törzs képes túlélni száraz pamut felületeken a keresztfertőzések kialakulásához elegendő ideig és csíraszámában, akár tápanyagszegény közegben inokulálva is. A MACI és VRE törzsek közül egyetlen egy sem pusztult el a hét napos inkubáció alatt. Eredményeink alapján a törzsek túlélőképessége a MDRB-csoportokon belül is különbözött, de a csoportok között nagyobb különbségeket találtunk. A vizsgált körülmények között a baktériumok túlélőképessége fajspecifikusnak bizonyult.

A baktériumfajok és izolátumok eltérő túlélőképessége miatt körültekintően kell kiválasztani a túlélési kísérletekhez használt törzseket. A túlélést és az antibakteriális hatékonyságot vizsgáló kísérletekben gyakran alkalmazott ATCC 6538 és ATCC 25923 *S. aureus* törzsek megfelelően modellezhetik az MRSA kórokozókat. Ugyanakkor más Gram-pozitív baktériumok, például a VRE törzsek túlélési képessége magasabb lehet a *S. aureus*-okénál, ami indokolja egyéb tesztörzsek kiválasztását is. A Gram-negatív kórokozók modellezéséhez gyakran használt ATCC 11105 és ATCC 25922 *E. coli* törzsek jelentősen alacsonyabb túlélőképességet mutattak száraz textil felületeken, mint a vizsgált MRKP és MACI törzsek. Az említett ATCC *E. coli* sztenderdek alkalmazása révén a Gram-negatív kórokozók túlélőképessége és így az általuk jelentett fertőzésveszély alábecsülhető.

7.1.2 Textília szövése és kémiai összetétele

Neely és Maley tanulmánya alapján a textília szövése befolyásolhatja a baktériumok túlélésének hosszát [188]. Eredményeik szerint az Enterococcusok és Staphylococcusok hosszabb ideig képesek fennmaradni törölközőn, mint sima felszínű pamut textílián (ruházat). Kísérleteink során megállapítottuk, hogy a textília szövése kvantitatívan is befolyásolhatja a MDRB túlélőképességét. Mind a négy általunk vizsgált MDRB-csoport szignifikánsan magasabb túlélőképességet (CFU/textil érték) mutatott 100% pamut törölközőn, mint 100% pamut lepedőn. A magasabb túlélőképesség hátterében a törölköző magasabb nedvszívó képessége állhat. A levegőn történő kiszáradás súlyosan károsítja a baktériumok membránjait, fehérjéit és örökítőanyagát, így a mikroorganizmusok többségét gyorsan elpusztítja [198]. A kiszáradás sebessége azonban meghatározó tényező lehet. A lassabb kiszáradás növelheti a baktériumok életképességét [199]. MDRB törzseink 100% pamut törölközőn mutatott magasabb túlélőképességét magyarázhatja a vastagabb, frottír kötésű anyagon történő lassabb kiszáradásuk. Eredményeinket Oller és mtsai. tanulmánya is megerősíti. Háromféle törölköző összehasonlítása során ugyan nem szignifikáns mértékben, de mégis magasabb csíraszámot nyerték vissza a *S. aureus* ATCC 25923 törzset a nagyobb nedvszívó képességű textilről [192]. Kutatásuk rámutatott, hogy a baktériumok nem csak túlélnek a törölköző felületén, de az inkulációt követően akár 48 órával is átkerülhetnek a törölközőről az azt használók kezére [192]. *In vivo* tanulmányok is bizonyítják, hogy a kontaminált törölközők nozokomiális fertőzések forrásai lehetnek. 2005-ben, Japánban egy kontaminált törölközőt és mosógépet azonosítottak *Bacillus cereus* fertőzések forrásaként [200]. A kontaminált törölközők közösségben is okozhatnak fertőzéseket. Ennek esélyét növeli, hogy a kórházakon kívül általában gyakoribb a törölközők többszöri és akár több személy általi, közös használata, ráadásul az egészségügyben használatos mosási protokollhoz képest ritkábban és alacsonyabb hőmérsékleten tisztítják őket. A törölközők közös használata volt az oka egy amerikai, főiskolai futball csapatban kialakult CA-MRSA járványnak [201]. A keresztszennyeződés és a fertőzések esélyének csökkentése érdekében nemcsak a kórházakban, de a házi gondozás során is ajánlott a mosási protokollok körültekintő alkalmazása. Különösen fontos a higiéniai szabályok betartása sebfertőzések vagy hasmenés esetén. A patogén baktériumok eliminálásához a magas mosási hőmérséklet elengedhetetlen. Riley és mtsai. kísérletében a 40°C-on történő mosás után *S. aureus* és

E. coli törzsek is visszatenyészthetőek maradtak, sőt a mosás során az eredetileg steril textíliák is kontaminálódtak [133]. Otthoni mosásnál is ajánlott a legalább 60 °C-os víz hőmérséklet alkalmazása [133]. Oller és mtsai. szerint a fehérítők a legalkalmasabbak a törölközők fertőtlenítésére [192].

Nemcsak a textíliák szövése, de anyagának kémiai összetétele is befolyásolhatja a baktériumok túlélőképességét. Neely összefoglalója alapján a mikroorganizmusok általában hosszabb ideig képesek megőrizni az életképességüket a kevert összetételű (60% pamut, 40% poliészter) és 100% poliészter szöveteken, mint a 100% pamut textíliákon [135]. Kvantitatív eredményeink alapján a Gram-pozitív MRSA és VRE törzsek szignifikánsan magasabb csíraszámokban voltak visszatenyészthetőek 100% poliészter lepedőről a kontrollként használt 100% pamut lepedőhöz viszonyítva. Ugyanakkor a Gram-negatív MACI törzsek szignifikánsan alacsonyabb túlélőképességet mutattak poliészteren, mint pamuton. A megfigyelt trendet alátámasztva, a MRKP törzsek túlélőképessége is a poliészter lepedőn volt alacsonyabb, ugyanakkor ebben az esetben a különbség nem volt szignifikáns. A kémiai összetétel eltérő hatásának ismerete a Gram-pozitív és Gram-negatív MDRB-csoportok túlélésére hasznos lehet az infekciókontroll, például a fertőzések, járványok forrásának felkutatása során.

7.1.3 Inokuláló médium

Az inokuláló médium is befolyásolhatja a baktériumok túlélését. Kellő mennyiségű nedvesség jelenlétében a szerves anyagok táplálékforrásként szolgálva elősegíthetik a baktériumok fennmaradását és szaporodását. Különböző szerves anyagok (pl. vér, vérszérum, fehérjék, cukrok) jelenlétében a baktériumok hosszabb idejű fennmaradását írták le száraz felületeken [132, 199]. Jawad és mtsai. kísérletében az *Acinetobacter* sp. izolátumok szarvasmarha szérumban albumin jelenlétében hosszabb túlélést mutattak, mint desztillált vízben inokulálva [202]. *E. coli*, *Salmonella* Typhimurium [203] és *Neisseria gonorrhoeae* [204] izolátumok esetében is hosszabb túlélési időt mértek szerves anyagok (pl. szarvasmarha, ló vagy humán szérum) jelenlétében.

A textíliát szennyező szerves anyagok igen sokféle forrásból származhatnak, úgymint vér, nyák, vizelet, széklet stb. A sokféle szennyezés nehezen modellezhető és összehasonlítható, ezért kísérleteink során a nutrient leves használata mellett döntöttünk. A nutrient leves tartalmaz minden, a baktériumok számára a

fennmaradáshoz, növekedéshez szükséges anyagot (szénhidrátok, szerves nitrogénvegyületek, vitaminok, ásványi anyagok stb.), ezért a „tápanyagok” túlélésre gyakorolt hatásának vizsgálatához megfelelő kiindulási modell lehet.

Kísérleti eredményeink alapján, a négy megvizsgált MDRB-csoportból a MRKP és a MRSA törzsek a fiziológiás sóoldattal összehasonlítva szignifikánsan magasabb csíraszámokban éltek túl nutrient levesben inokulálva. Azonban ezek a törzsek sem szaporodtak, csupán lassabb ütemű pusztulást mutattak a szerves anyagok jelenlétében. Ugyanakkor nem találtunk jelentős különbséget a MACI és VRE törzsek túlélésében a tápanyagok jelenléte vagy hiánya szempontjából. Magyarázhatja az eredményeket, hogy a szerves anyagok száraz környezetben nem táplálékforrásként szolgálnak, hanem a biofilmtermelő izolátumok exopoliszacharid molekuláihoz hasonlóan beborítják és védik a sejteket [202]. Ez a szerves anyagokból felépülő „burok” képes lehet visszatartani a vízmolekulákat, ezáltal lassítva a baktériumok kiszáradását [202]. Ahogyan az előző fejezetben már említettem, a lassabb kiszáradás növelheti a baktériumok túlélését [199], mivel több időt biztosít a baktériumok anyagcseréjének alkalmazkodásához, csökkentve a kiszáradás okozta károsodásokat. Az elméletet alátámasztja Espinal és mtsai. tanulmánya, melyben a biofilmtermelő *A. baumannii* izolátumok hosszabb ideig maradtak fenn a felületeken, mint a nem biofilmtermelő kontroll izolátumok [205]. A kutatás magyarázata alapján a hidratált exopoliszacharidok megvédték a biofilmtermelő *A. baumannii* sejteket a letális kiszáradástól. Eredményeink megerősítik ezt a hipotézist, ugyanis az általunk alkalmazott nutrient leves, mint inokuláló közeg csak a kiszáradással szemben érzékenyebb MRKP és MRSA törzsek túlélőképességét növelte, a kiszáradást jobban tűrő MACI és VRE törzsek túlélőképességét nem befolyásolta. A nutrient levesben található szerves anyagok valószínűleg lelassították a sejtek kiszáradását, ezáltal csökkentették a kiszáradással szemben érzékeny és toleráns MDRB-csoportok túlélőképessége közötti különbségeket.

7.1.4 Hőmérséklet és páratartalom

Eddig csupán néhány tanulmány vizsgálta az általunk kiválasztott körülményekhez hasonló hőmérséklet és relatív páratartalom értékek hatását a bakteriális túlélésre. A tanulmányok inkább az élelmiszeripari szempontból jelentős hőmérséklet tartományokra (4-6°C kontra 20-25°C) és baktériumfajokra fókuszálnak (*Salmonella* sp., *Listeria* sp., *E. coli*) [206, 207]. Ezen kutatások alapján az alacsony hőmérséklet és a páras környezet növelheti a baktériumok fennmaradását. Ezen megfigyelésekkel

összhangban az *A. baumannii* R447 törzs 31%-os relatív páratartalom mellett 11 napig, 10% relatív páratartalmú környezetben 4 napig volt visszatenyészthető üveg felületen vizsgálva [202]. Az *E. coli* O157 törzs is hosszabb ideig maradt fenn nedves fa és acél felületen, mint szárazon [208].

Kutatásunk során két, az egészségügyi intézményekben általánosan előforduló környezetet modelleztünk („KONTROLL” - kórterem; „TEST” - az emberi test közelsége). Minden MDRB-csoport szignifikánsan alacsonyabb csíraszámban élt túl a „TEST” körülményben, mint a „KONTROLL” körülményben vizsgálva. Habár a korábban említett tanulmányok alapján a magasabb páratartalomnak növelnie kellett volna a baktériumok túlélését, a magas hőmérséklet túlélést csökkentő hatása a vizsgált paraméterek esetében erőteljesebbnek, meghatározóbbnak bizonyult. Elméletünk szerint alacsonyabb hőmérsékleten a baktériumok kevésbé aktívak, az anyagcseréjük lelassul, így könnyebben „nyugvó” állapotba kerülhetnek, ami elősegítheti a száraz felszíneken való túlélésüket. A néhány, hasonló hőmérsékleti tartományokat vagy hasonló baktériumcsoportokat vizsgáló kutatás megerősíti az eredményeinket. Colclasure és mtsai. nagyobb számú környezeti Coliform baktériumot azonosítottak 25 °C-on tárolt szöveteken, mint 37 °C-on [209]. *E. faecium* és *S. aureus* izolátumok túlélését összehasonlítva 100% pamut szöveten, 5 °C, 25 °C és 50 °C-on, Fijan és mtsai. a 25 °C-t találták a legmegfelelőbbnek [187].

7.2 MDRB túlélése antibakteriális textíliákon

7.2.1 Hatóanyagok hatékonysága

A Sanitized T99-19-QAC és T27-22-Silver hatóanyagokat már több tanulmány vizsgálta, főként kvalitatív módszerekkel (pl. textilkorong körüli gátlási zóna) [210-217]. Tudomásunk szerint korábban nem mérték meg T99-19-QAC és T27-22-Silver oldatok antibakteriális hatékonyságát nagyszámú, multidrog-rezisztens nozokomiális baktériumtörzssel szemben. A Sanitized oldatok vizsgálatának első lépéseként antibakteriális hatásukat táplevesben mértük meg, pamutszövet alkalmazása nélkül. A T99-19-QAC és T27-22-Silver oldat mind a 60 MDR és mind a 4 ATCC sztenderd törzssel szemben baktericid hatást mutatott.

A T99-19-QAC hatóanyagból a MDR Gram-negatív törzsek szignifikánsan nagyobb koncentrációt toleráltak, mint a Gram-pozitívak. Az ATCC *E. coli* törzsek T99-19-QAC MIC értéke is magasabb volt, mint az ATCC *S. aureus*-oké. A T99-19-QAC oldat

hatóanyagával rokon QAC-vegyületek esetében az irodalmi adatok is megerősítik eredményeinket [143, 151]. A jelenség lehetséges magyarázata, hogy a Gram-negatív baktériumok külső membránja akadályozza a hatóanyag sejthez kötődését, sejtbe jutását, míg a peptidoglikánban és teikolsavban gazdag Gram-pozitív sejtfa átengedi ezeket a nagy molekuláris tömegű anyagokat. Vagyis a Gram-negatív fajok természetes rezisztenciamechanizmusa állhat a háttérben [143].

Adataink alapján a MDR Gram-negatív törzsek a T27-22-Silver hatóanyagból is szignifikánsan magasabb koncentrációt toleráltak, mint a Gram-pozitív törzsek. Gopinath és mtsai. 2-2 Gram-pozitív és Gram-negatív izolátum vizsgálata során hasonló AgCl MIC értékeket mértek (*S. aureus* (3 mg/l), *Streptococcus pyogenes* (4 mg/l); *E. coli* (5 mg/l), *Proteus vulgaris* (7 mg/l)) [218]. Suchomel és mtsai. tanulmányában szintén a mieinkhez hasonló Ag MIC értékeket mértek (3,4-13,5 mg/l), de adataik alapján az AgBr nanorészecskékkel szemben a Gram-pozitív, az Ag nanorészecskékkel szemben a Gram-negatív baktériumok bizonyultak ellenállóbbnak [219]. Kísérletükben azonban mindössze 9 baktériumtörzset használtak és az általuk talált különbségek nem szignifikánsak.

Összehasonlítva az ATCC sztenderdek és a nozokomiális MDRB csoportjait, megállapítottuk, hogy az ATCC *S. aureus*-ok a MRSA, és VRE törzsekkel megegyező érzékenységet mutattak mind a két hatóanyag esetén, ezért alkalmazásuk az ilyen vizsgálatokban megfelelő lehet. Az ATCC *E. coli*-k viszont mind a két hatóanyaggal szemben érzékenyebbek voltak, mint a MRKP és MACI törzsek, de érzékenyebbek voltak a Gopinath és mtsai. tanulmányában vizsgált egyetlen, de ismeretlen eredetű *E. coli* izolátumnál is [218]. Mindezek miatt az ATCC 11105 és ATCC 25922 *E. coli* törzsek alkalmazása megfontolandó az egészségügyi célokra szánt hatóanyagok vizsgálatában. A nozokomiális, MDRB vizsgálata mellett szól az is, hogy hordozhatnak olyan géneket, melyek a biocid-rezisztencia gyors kialakulását eredményezhetik [167]. A MRKP és MACI törzsek nagyobb ezüst toleranciája háttérben rezisztenciamechanizmusokat feltételeztünk, ezért szoktatási kísérletnek vetettük őket alá.

A Pearson-féle korreláció alapján nem találtunk összefüggést a baktériumtörzsek hatóanyagokkal szembeni MIC és MBC értéke, illetve ugyanazon hatóanyagokkal kikészített antimikrobiális felületen való túlélésük között. A táplevesben végzett

kísérletek (pl. textildarabok beáztatása) eredményeiből nem következtethetünk az antibakteriális textíliák száraz körülmények közötti hatékonyságára.

7.2.2 Antibakteriális textíliák

Két, a textiliparban gyakran alkalmazott antimikrobiális hatóanyagot tartalmazó Sanitized kikészítőszer rövid és hosszú távú hatékonyságát vizsgáltuk 60 MDRB és 4 ATCC sztenderd törzssel szemben. A korábbi fejezetekben említett tanulmányok alapján a kórokozók az élettelen felületekről gyorsan szétterjedhetnek, kontaminálva egyéb felületeket, megfertőzve betegeket, dolgozókat és látogatókat egyaránt. A kontaminált felületek okozta fertőzésveszély eredményes csökkentéséhez a kórokozókat rövid idő alatt elimináló antimikrobiális hatóanyagokra lenne szükség, így eredményeink közül az egy órás hatékonyság különösen nagy jelentőséggel bír. Az egy órás inkubálást a MRSA és VRE törzsek előkísérletben mutatott, T27-22-Silver hatóanyaggal szembeni érzékenysége is indokolta. A hosszabb távú hatás vizsgálata az előkísérletben kisebb érzékenységet mutató Gram-negatív MDRB miatt és a kórházi textíliák legalább egy napos használata miatt is indokolt.

Nem könnyű összehasonlítani a különböző kutatásokban leírt antimikrobiális textíliák hatékonyságát, mert nagyon sok tényező befolyásolhatja az eredményeket és az azokból levont következtetéseket. Ilyen befolyásoló tényezők lehetnek (i.) az antimikrobiális kikészítés paraméterei (pl. hatóanyag, koncentráció, kikészítés módszere), (ii.) a vizsgált baktériumtörzsek különbözősége (pl. túlélőképesség, antimikrobiális hatóanyaggal szembeni ellenállóképesség), (iii.) a bakteriális inokulum mérete, (iv.) az inkubáció paraméterei (pl. hőmérséklet, páratartalom, időtartam). A kapott eredmények körültekintő elemzése legalább ilyen fontos. A 13. és 14. ábrákon jól összehasonlíthatóak a párosított t-teszt és az Antibakteriális Aktivitási Érték alapján elvégzett értékelés eredményei, ami azt mutatja, hogy a baktériumok csíraszámának szignifikáns csökkenése nem feltétlenül jelent szignifikáns antibakteriális hatékonyságot.

Az általunk kikészített antibakteriális lepedők hatóanyagtartalma ~3000 mg QAC/kg száraz textil, illetve 140 mg AgCl/kg száraz textil (számítás alapján). Ezen hatóanyagtartalmak összhangban vannak az irodalmi ajánlásokkal és gyakorlattal [139, 220, 221]. A pamutszövet kikészítése során a merítéses eljárást (bath-method) alkalmaztunk, ami Gutarowska és mtsai. tanulmánya alapján alkalmasabb a T99-19-

QAC hatóanyaggal történő antibakteriális kikészítésre, mint a permetezéssel (spray-method) történő felvitel [213].

7.2.2.1 T99-19-QAC lepedő hatékonysága

Budimir és mtsai. 100% pamut felületen vizsgálták a T99-19-QAC hatékonyságát [212]. Az általunk is vizsgált ATCC 6538 *S. aureus* sztenderd esetén egy napos inkubációt követően 4,71-es, az ATCC 10536 *E. coli* törzsnél 3,9-es Antibakteriális Aktivitás Értéket mértek. Ezzel szemben, kísérleteink szerint a T99-19-QAC lepedő sem a 4 ATCC, sem a 60 MDR nozokomiális törzs ellen nem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot (A-érték <2). A mi két ATCC *E. coli* törzsünk kezeletlen textílián is alacsony túlélőképességet mutatott, ami miatt magas A-érték nem is volt várható. Elképzelhető, hogy a Budimir és mtsai. által vizsgált ATCC 10536 *E. coli* egy, a kiszárítást jobban tűrő, de QAC-k iránt nagyobb érzékenységgel rendelkező törzs. Az ATCC 6538 *S. aureus* törzsnél tapasztalt eltérést magyarázhatja, hogy Budimir és mtsai. táplevesben inokulálták a vizsgált törzseket. A tápanyagok jelenléte, vagy a vizsgált textíliák különböző hatóanyagtartalma is okozhatta az eltérést (Budimir és mtsai. nem ismertették a T99-19-QAC alkalmazott koncentrációját).

A T99-19-QAC hatóanyagához hasonló QAC-vegyületek irodalmi eredményei azt mutatják, hogy a kvaterner ammóniumsók nagyobb antibakteriális hatékonyságot mutatnak a Gram-pozitív, mint a Gram-negatív baktériumokkal szemben [222-224]. Kísérletünkben a T99-19-QAC hatóanyag valóban a Gram-pozitív MRSA törzsekkel szemben volt a leghatékonyabb. Igaz, az egy napos inkubáció után így is csak 3 MRSA törzs maradt visszatenyészthetetlen a bevont felületen. Fontos megjegyeznünk, hogy egyik fent említett cikk sem vizsgálta a hatékonyságot VRE izolátumokkal szemben, melyek igen ellenállóak bizonyultak mind a kiszárítással, mind a T99-19-QAC lepedő hosszútávú antibakteriális hatásával szemben.

7.2.2.2 T27-22-Silver lepedő hatékonysága

Kulthong és mtsai. öt különböző koncentrációjú T27-22-Silver oldattal kikészített pamutszövet antibakteriális hatékonyságát vizsgálták az általunk is alkalmazott ATCC 6538 *S. aureus* és az ATCC 25922 *E. coli* törzsek ellen. Eredményeik összhangban vannak a miénkkel, az ezüst-sók a Gram-pozitív kórokozók ellen hatékonyabbnak bizonyultak [216].

Lorenz és mtsai. összehasonlítottak nyolcféle, kereskedelmi forgalomban kapható, ezüsttartalmú antibakteriális textíliát [217]. Három nem rendelkezett semmiféle

antibakteriális hatással a megvizsgált ATCC 4352 *K. pneumoniae* törzssel szemben. Másik három termék 5 nagyságrendes csíraszám csökkenést eredményezett. Messaud és mtsai. egy Ag-TiO₂ nanorészecskékkel kikészített szövet szignifikáns antibakteriális hatékonyságát írták le egy-egy Gram-pozitív (*Listeria innocua*) és Gram-negatív (*E. coli*) izolátummal szemben. Ugyanakkor azt tapasztalták, hogy a baktériumok képesek szaporodni a textília ezüsttel szegényebben bevont területein [144]. Gerba és mtsai. tanulmányában az ezüst-impregnált textília 24 óra után $\geq 2.7 \log_{10}$ és $8 \log_{10}$ érték közötti redukcióját mutatta az 5 megvizsgált ATCC sztenderd törzs csíraszámának, habár az inokulálás során mindössze $\sim 10^4$ - 10^5 bakteriális CFU-t csepegtettek a felületekre [225]. Hahn és mtsai. kutatása során az ezüst-nanorészecskékkel bevont textília >99,9%-kal csökkentette a vizsgált ATCC 6538 *S. aureus* és ATCC 4352 *K. pneumoniae* törzsek csíraszámát a kontrollhoz képest [226]. Leírásuk alapján az általuk kikészített antibakteriális textília több, klinikai mintákból származó baktériummal szemben is hatékonynak bizonyult, de a publikációjukból nem derül ki egyértelműen a vizsgált izolátumok száma, rendszertani besorolása stb. Az ezüstvegyületek ugyan hatékonynak tűnnek a fent említett publikációkban, de nem, vagy csupán kevés MDR Gram-negatív izolátumot vizsgáltak. Eredményeink rámutattak, hogy a vizsgálatok során használt baktériumtörzsek kiválasztása a hatékonyság mérésének egyik kritikus lépése. Habár a T27-22-Silver lepedő szignifikáns antibakteriális hatékonyságot mutatott valamennyi ATCC és MDR Gram-pozitív törzssel szemben, és >90%-ban csökkentette egyes Gram-negatív törzsek (ATCC 11105 *E. coli*, 3 MRKP és 5 MACI) csíraszámát, összességében, az átlagolt Antibakteriális Aktivitási Értékek alapján nem volt szignifikáns antibakteriális hatékonysága a Gram-negatív törzsekkel szemben.

Saját eredményeink és az irodalmi adatok alapján az ezüst-sók hatékonyak a Gram-pozitív kórokozókkal szemben, de további kutatások szükségesek olyan módszer kidolgozásához, amivel az ezüstvegyületek valóban hatékonyan alkalmazhatóak a Gram-negatív baktériumok ellen is. Egy lehetséges megoldás a különböző antimikrobiális hatóanyagok kombinációja. Például Arain és mtsai. kitozánnal kombinálták a T27-22-Silver hatóanyagot. Az így kikészített szövet magasabb antibakteriális aktivitást mutatott a megvizsgált *S. aureus* és *E. coli* izolátummal szemben [215].

Kísérletünkben az ATCC *S. aureus* és a MRSA törzsek hasonló túlélőképességet mutattak mind a kétféle antimikrobiális textílián. Véleményünk szerint azonban

mindenképpen érdemes más Gram-pozitív fajokat is tesztelni a hatékonyságvizsgálatok során, hiszen például a VRE izolátumok is ellenállóbbak az élettelen, száraz textil felületeken. A megvizsgált ATCC *E. coli* sztráenderdek alacsony szárazságtűrésük és a hatóanyagokkal szembeni érzékenységük miatt kevésbé alkalmasak a hatékonyságvizsgálatokra.

7.2.2.3 Fajon belüli összehasonlítás eredményei

Az irodalmi adatok alapján a baktériumok túlélőképessége széles határok között változhat élettelen felületeken. A visszatenyészthetőség időtartama néhány óra és akár 46 hónap között is változhat az általunk vizsgált baktériumcsoportok esetében [126, 132]. Hatvan MDRB törzs túlélését vizsgáltuk különböző textíliák felületén. Az egy fajhoz tartozó baktériumtörzsek túlélőképessége 1-4 nagyságrendnyi eltéréseket mutatott. A jelenség elemzéséhez molekuláris genetikai jellemzőik alapján csoportosítottuk a törzseket, majd összehasonlítottuk a csoportok túlélőképességét kezeletlen és antibakteriális felületeken. Eredményeink rámutattak, hogy számos tényező és paraméter befolyásolhatja a baktériumok túlélési képességét egy-egy fajon belül is. Az általunk vizsgált törzsek száma azonban nem elegendő az összefüggések részletes feltárásához, ahhoz további, átfogó vizsgálatokra van szükség.

Az egyik vitatott kérdés a magas kockázatú, globálisan elterjedt, járványokozó és a sporadikus megjelenésű vagy minor klónok túlélése közötti különbség kezeletlen felületeken [227-229]. Az egyik magyarázat szerint az egész világon elterjedt, pándémiás baktériumklónok általában magas virulenciájúak, többféle antibiotikummal és akár nem-antibiotikum típusú antimikrobiális hatóanyaggal szemben is ellenállóak, képesek túlélni élettelen, száraz felületeken, és gyorsan elszaporodnak, ha megfelelőek a körülmények. Ezek alapján nem meglepő, hogy a pándémiás klónokhoz tartozó törzsek nagyobb túlélőképességgel rendelkeznek az élettelen felületeken, mint a sporadikusan megjelenő minor klónok tagjai. Ugyanakkor ismert tény, hogy a rezisztenciagének hordozása, halmozása a bakteriális fitness csökkenéséhez vezethet, különösen a Gram-pozitív fajok esetében. Ennek következtében az érzékeny, vagy mérsékelt rezisztens izolátumok életképesebbnek bizonyulhatnak egy antibiotikum-, vagy biocidmentes környezetben, mint a multidrog-rezisztens baktériumok [230]. Kutatásunk során az elsősorban közösségben terjedő, az antibiotikumok szűkebb spektrumával szemben rezisztens CA-MRSA törzsek szignifikánsan magasabb

csíraszámokban éltek túl kezeletlen lepedőn, mint a nozokomiális fertőzéseket okozó HA-MRSA törzsek.

Két másik vitatott kérdés a magas kockázatú és minor klónokhoz tartozó törzsek közötti különbség az antimikrobiális szerekkel szembeni érzékenységében [157, 231], illetve az antibiotikum és nem-antibiotikum típusú hatóanyagok közötti keresztrezisztencia fennállása [153, 157, 167, 232-234]. Az egymásnak látszólag ellentmondó irodalmi adatok háttérben az antimikrobiális szerek hatásmechanizmusának, illetve a baktériumok védekezési stratégiájának sokfélesége állhat. A kérdések kielégítő megválaszolásához minél több információt kell gyűjteni a különböző antimikrobiális hatóanyagok és genetikailag jól jellemzett törzsek közötti összefüggésekről. Kutatásunk során összehasonlítottuk a kétféle glikopeptid-rezisztenciával (*vanA* és *vanB*) rendelkező VRE törzsek túlélését. A kombinált antibiotikum-rezisztenciát (vankomicin és teikoplanin) okozó *vanA* génklaszterrel rendelkező VRE törzsek szignifikánsan nagyobb túlélőképességet mutattak a T99-19-QAC antibakteriális lepedőkön, mint a *vanB* (vankomicin-rezisztens) hordozók. Hasman és mtsai. leírtak egy plazmidon kódolt réz-rezisztenciagént (*tcrB*), mely genetikailag kapcsolt a *vanA*, illetve egyéb antibiotikum-rezisztenciagénekhez (pl. *ermB*) [235]. Lehetséges, hogy hasonló jelenség áll a *vanA* VRE törzseink magasabb QAC toleranciájának háttérben is. Ennek felderítése további vizsgálatokat igényel.

Egy adott baktériumfajon belül nem csak a globálisan elterjedt, magas kockázatú és sporadikus csoportok, de a különböző magas kockázatú klónokhoz tartozó törzsek túlélőképessége között is lehet különbség. A CC1 klonális komplexhez tartozó MACI törzseink szignifikánsan nagyobb csíraszámokban éltek túl kezeletlen lepedőn, mint a CC2 MACI törzsek. Ugyanakkor a T27-22-Silver antibakteriális lepedő szignifikánsan nagyobb antibakteriális hatékonyságot mutatott a CC1 MACI törzsekkel szemben. 2010 óta a CC2 MACI törzsek aránya világszerte emelkedik. 2005 és 2010 között Magyarországon az izolátumok jelentős része a CC1 klonális komplexbe tartozott, de 2010 és 2015 között a CC2 MACI izolátumok növekvő aránya volt megfigyelhető [58]. A jelenség háttérben akár a CC2 MACI izolátumok antimikrobiális szerekkel szembeni nagyobb toleranciája és az ezüst [236], illetve QAC hatóanyagok [237] gyakori egészségügyi alkalmazása is állhat.

A baktériumok nagy evolúciós potenciállal rendelkeznek, aminek következtében számos antimikrobiális szerrel szemben válhatnak rezisztenssé [165, 238-241]. A

rezisztenciát okozó gének konjugatív plazmidok révén horizontálisan terjedhetnek az egyes törzsek vagy fajok között [167, 235, 242], így, akár egyetlen sikeresen alkalmazkodott törzs is elegendő lehet bármely antimikrobiális szer elleni rezisztencia globális elterjesztéséhez [142, 243]. A nem-antibiotikum típusú antimikrobiális szerekkel szembeni széleskörű rezisztencia elkerüléséhez elengedhetetlen az antimikrobiális szerek körültekintő használata és a mikrobiális rezisztenciamechanizmusok további vizsgálata.

7.2.2.4 Antimikrobiális hatóanyagok alkalmazásának korlátai

Eredményeink alapján a T27-22-Silver lepedő a Gram-pozitív kórokozókat hosszabb időtartam (egy napos inkubáció) alatt szinte teljesen eliminálta, ugyanakkor egyik megvizsgált hatóanyag sem volt alkalmas a MDR Gram-negatív kórokozók elpusztítására. Felvetődhet a kérdés, hogy lehetséges-e növelni a megvizsgált antimikrobiális textíliák hatékonyságát a fertőzésveszély további, illetve gyorsabb csökkentése érdekében. Egy fentebb már említett lehetőség (7.2.2.2 fejezet) a textíliák hatékonyságának növelésére az antibakteriális szerek kombinációja. Kang és mtsai. QAC és ezüst nanorészecskék kombinációjával készítették ki pamut textíliát, és a kétféle hatóanyag szinergista antibakteriális hatást mutatott a Gram-negatív ATCC 15692 *P. aeruginosa* ellen [244]. Egy másik tanulmányban az ezüst-nanorészecskék antibiotikumokkal (enoxacin (kinolon), kanamycin és neomycin (aminoglikozidok), polipeptid (tetraciklin)) kombinációban mutattak szinergista antibakteriális hatást *Salmonella* Typhimurium izolátummal szemben [245]. Ugyanakkor az infekciókontroll egyik alapelve az antibiotikumok körültekintő és célzott alkalmazása. Az antibiotikumok nagymennyiségű, általános célú használata rezisztenciamechanizmusok kialakulásához, a rezisztens kórokozók kisselektálódásához és akár széleskörű elterjedéséhez vezethet.

Az antibakteriális hatékonyság növelésének másik, talán legegyszerűbbnek tűnő lehetősége a hatóanyag koncentrációjának növelése a szöveten. Ez azonban a szennyvízbe kerülő antimikrobiális szerek mennyiségének növekedésével járhat. Budimir és mtsai. szerint a T99-19-QAC hatóanyaggal kikészített cellulózszálak mosásállósága kicsi [212]. A kikészített textília antibakteriális aktivitása tíz mosási ciklust követően teljesen megszűnt. A QAC-vegyületek biológiailag lebonthatóak aerob körülmények között, de ennél a folyamatnál általában gyorsabb az anaerob üledékben való feldúsulásuk [246, 247]. A nagy mennyiségben akkumulálódott QAC-vegyületek

nemcsak mérgezőek a vízi és szárazföldi szervezetekre, de jelenlétük a biocid-rezisztencia kialakulásának esélyét is növelheti [246, 247].

Mosás, illetve használat során az ezüstvegyületek is leoldódnak mind a kereskedelmi forgalomban kapható, mind a laboratóriumi körülmények között kikészített szövetekről [216, 217]. Még nem teljesen világos, hogy a megnövekedett ezüsthasználatnak milyen hátrányai, káros következményei lehetnek [248]. Az azonban biztos, hogy a hatóanyag kimosódása csökkenti az antibakteriális textíliák hatékonyságát, az ezüsttel szennyezett szennyvíz veszélyezteti a vízi élővilágot [249], és az égési sérülések kezelése során a szervezetbe jutott ezüst argyriát, illetve toxikus hepatitist okozhat [250].

Bármilyen antibakteriális hatóanyagot is használnak a textíliák kikészítéséhez, és akár fizikai (elektrosztatikus kölcsönhatások, van der Waals erők), akár kémiai úton (kovalens kötés) rögzítik azt a szövethez, a textíliák antibakteriális hatékonysága folyamatosan csökken a használat során, és a hatóanyagok egy része mindenképpen kikerül a természetbe. A gyenge mosásállóságra egy lehetséges megoldás lehetne, ha az antimikrobiális hatóanyagot újra és újra, a textíliák mosási ciklusának végén, például az öblítéssel együtt, vagy egy azt követő beáztatás során valósítanák meg [130]. Optimális esetben a hatóanyag szennyvízből történő megkötésével, visszanyerésével a környezet terhelését is vissza lehetne szorítani.

7.3 Ezüstrezisztencia

7.3.1 Ezüstrezisztencia – *K. pneumoniae*

A kutatásunk során vizsgált 15 MRKP törzs 80%-ában sikerült ezüst-rezisztenciát indukálnunk. Teljes genom szekvenálás révén kutattuk az ezüstrezisztencia megjelenésének háttérében álló genetikai mechanizmusokat. Elemeztük négy, globálisan elterjedt, magas kockázatú, illetve egy minor klónhoz tartozó szülő – ezüst-rezisztenst MRKP törzspár, és kettő nem szoktatható MRKP törzs genomját. Konjugációs kísérletek segítségével vizsgáltuk az ezüst-rezisztenciáért felelős rendszerek horizontális átvihetőségét. Az ezüstrezisztencia mechanizmusát elsősorban *E. coli* izolátumokon kutatták, de Randall és mtsai. 2014-ben egy *K. pneumoniae* izolátumot is kiválasztottak a Sil-rendszer derepressziójának vizsgálatához [165], illetve Sütterlin és mtsai. 2017-ben teljes genom szekvenálás révén vizsgálták egy ST20 szekvencia típusú *K. pneumoniae* törzs Sil-génjeit ezüst-nitráthoz való szoktatás előtt és után [141].

A szoktatási kísérlet előtt MRKP törzseink AgNO₃ MIC értékei hasonlóak voltak a Randall és mtsai. által publikált értékekhez [165]. Sütterlin és mtsai. eredményeivel összhangban, mi sem találtunk mérhető különbségeket az eltérő genetikai jellemzőkkel (szekvencia típus, *sil*-gén hordozása) rendelkező törzsek AgNO₃ MIC értékei között [141]. A szoktatási kísérlet során 12 MRKP törzsünk AgNO₃ MIC értéke nagymértékben megemelkedett (4-8 mg/l-ről >8500 mg/l-re). Sütterlin és mtsai hasonlóan emelkedett MIC értéket (>512 mg/l) tapasztaltak nemcsak a *K. pneumoniae*, de *K. oxytoca*, *E. cloacae* és *E. coli* izolátumok esetében is [141]. Eredményeink rámutattak, hogy az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenése klonalitástól független az MRKP izolátumok esetében. Az ezüstrezisztencia néhány lépéses szoktatás során indukálhatónak bizonyult nemzetközileg elterjedt, magas kockázatú (ST15, ST258, ST11) és minor klónhoz tartozó MRKP-ban is. Ugyanakkor egy másik ST15-ös, egy ST25-ös és egy ST274-es szekvencia típusú MRKP törzsünkben nem sikerült ezüst-rezisztenciát indukálni a kísérlet során.

Az ezüst-rezisztens K5024 (ST274) nem hordozta a CHASRI rendszert, ezzel alátámasztva, hogy az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenéséhez nem szükséges plazmidon hordozott ezüst-homeosztázis gének jelenléte. Sütterlin és mtsai. szintén sikerrel szoktattak AgNO₃ oldathoz egy *sil*-negatív *K. pneumoniae* izolátumot, de a háttérben álló genetikai mechanizmust nem vizsgálták [141]. Egy *E. coli* törzs vizsgálata során Randall és mtsai. megállapították, hogy a kromoszómáisan kódolt CusCFBA-rendszer expressziójának megemelkedése elegendő lehet az ezüstionok sejtből való eltávolításához, feltéve, hogy egyidejűleg az OmpC/F porinok is hiányoznak a baktérium külső membránjáról [165]. A K5024-S és K5024-R törzsek genomját összehasonlítva találtunk egy misszensz mutációt a *cusS* génben (10. táblázat, 15. ábra) és egy nonszensz mutációt az *ompK36* génben (Q261*; * jelentése stop kodon), ami az *E. coli*-kban található *ompC* gén homológja [251]. Ezek az eredmények megerősítik Randall és mtsai. következtetéseit, és egyben bizonyítják, hogy a mutációk ilyen kombinációja a *K. pneumoniae* törzsekben is előfordulhat.

Bár a CHASRI rendszer jelenléte nem feltétele az ezüst-rezisztens fenotípus kialakulásának, a sziget egy vagy több kópiában való hordozása növelheti a megfelelő mutációk megjelenésének esélyét. A teljes genom szekvenálás során megvizsgált törzseink közül mind a négy CHASRI hordozó MRKP ezüst-rezisztenssé vált a szoktatás során. Ugyanakkor a három CHASRI rendszer nélküli MRKP törzs közül csak

egynek az AgNO_3 MIC értékei emelkedtek meg. Sütterlin és mtsai. 12 *Enterobacteriaceae* törzs esetében a *silS* génben (két szegmens valamelyikében: 629-725 bp vagy 919-1054 bp) találtak egy pontos nukleotid polimorfizmusokat (single nucleotide polymorphism – SNP) [141]. A K6004-R, K5132-R és a K5442-R törzseink genomjában mi is azonosítottuk a *silS* gén egy-egy misszensz mutációját (K-6004-R és K5132-R esetében a *silR*-ben is volt mutáció, de Sütterlinék ezt a gént nem vizsgálták). Ugyanakkor a szintén CHASRI hordozó K5149-R törzs esetében a *cusS* génben azonosítottunk aminosavcserét (10. táblázat, 15. ábra). Feltételezzük, hogy a kromozómális és plazmidon hordozott ezüst-homeosztázis és rezisztenciarendszerek kooperációja következtében, mind a *cusS*, mind a *silS* gének mutációi kiválthatják a CusCFBA és SilCFBA effluxrendszerek génjeinek folyamatos expresszióját, ami ezüst rezisztenciához vezet.

Randall és mtsai. megállapították, hogy a Sil-rendszer mutációi révén ezüst-rezisztenssé vált *Enterobacteriaceae* törzsek fitnessze ($0,91 \pm 0,04$ és $0,98 \pm 0,02$) csak jelentéktelen mértékben tér el a szülő törzsekétől ezüst-mentes környezetben [165]. Ugyanakkor a kromozómális *cusS* és *ompR* gének mutációja következtében kialakult ezüstrezisztencia mérhető fitnessz csökkenést okozott az általuk vizsgált *E. coli* törzs esetében (rezisztens törzs relatív fitnessze $0,71 \pm 0,02$) [165]. Kutatásunk alapján a MRKP törzsek esetében nemcsak a Sil-rendszer (relatív fitnessz: $0,97 \pm 0,07$), de a kromozómális *cusS* gén (relatív fitnessz: $0,92 \pm 0,05$) okozta ezüstrezisztencia sem jelent érdemleges növekedési hátrányt ezüst-mentes környezetben.

Sub-MIC koncentrációjú AgNO_3 jelenlétében a K5024-S, K5312 és a K5825 törzsek alacsonyabb növekedési képességet és a növekedés exponenciális fázisának időbeli eltolódását mutatták a CHASRI rendszert hordozó törzsekhez képest (16. ábra). Feltételezzük, hogy a növekedési hátrány oka az expresszált effluxpumpák alacsonyabb száma a bakteriális membránban, ami a CHASRI rendszer hiányának a következménye. A CHASRI-val nem rendelkező törzseknek tehát nemcsak kevesebb regulátor génjük van, melynek mutációja révén megjelenhet az ezüst-rezisztens fenotípus, de a növekedési képességeik is alacsonyabbak ezüstionok sub-MIC koncentrációjú jelenlétében. Az elméletünket alátámasztja a K5149-R törzs alacsonyabb növekedése $315 \mu\text{M}$ AgNO_3 koncentráció jelenlétében az $5 \mu\text{M}$ AgNO_3 tartalmú BHI leveshez képest (10. táblázat). Ennek oka az lehet, hogy a K5149-R törzsben a *silR* regulátor gén funkcióképtelenné vált az ISEc23 elem inszerciója miatt, aminek következtében a

SilCFBA effluxrendszer expressziója lecsökkent a funkcióképes *silR* gént hordozó törzsekhez viszonyítva, alacsonyabb növekedési képességet okozva.

Ezüstvegyületek jelenlétében a CHASRI rendszer hordozása fontos szelekciós előnyt jelenthet a baktériumok számára, egyrészt a nagyobb növekedési képesség, másrészt az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenésének megnövekedett esélye miatt. A CHASRI hordozásáról nincsenek még adatok, de Sütterlin és mtsai. a *sil* gének hordozását már vizsgálták egy felmérésben. Megállapították, hogy a Svédországban izolált 129 kórházi *K. pneumoniae* izolátum 41%-a hordozott valamilyen *sil* gént [141]. Eredetileg csupán az izolátumok 3%-a mutatott ezüst-rezisztens fenotípust, de Sütterlin és mtsai. illetve saját eredményeink alapján tudjuk, hogy egyetlen mutáció elegendő az Ag⁺ MIC értékek drasztikus megemelkedéséhez.

A CHASRI rendszer horizontális átvihetőségét konjugációs kísérletek révén vizsgáltuk. Deshpande és mtsai. 1994-es tanulmányában az ezüstrezisztencia konjugáció révén horizontálisan átvihetőnek bizonyult egy *A. baumannii* izolátumból az *E. coli* K12-es törzsbe [242], de legjobb tudomásunk szerint mi írtuk le először az ezüstrezisztencia gének sikeres átvitelét *K. pneumoniae* és *E. coli* törzsek között. *In vitro* kísérleteink során egy ST15 és egy ST11 szekvencia típusú MRKP törzsnél is sikeres volt az ezüstrezisztenciát okozó gének horizontális átvitele.. Az egyetlen mutációt (*silS* gén; (10. táblázat, 15. ábra) hordozó p5442 plazmid felvételével az *E. coli* K12 törzs AgNO₃ MIC értéke a donor MRKP törzsével azonos szintre emelkedett. Ezzel sikerült bizonyítanunk Sütterlin és mtsai. elméletét, miszerint a *silS* génben egyetlen misszensz mutáció elegendő az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenéséhez [141]. A p5442 plazmid analízise során kiderült, hogy a CHASRI rendszer antibiotikum-rezisztenciagénekkel együtt került át a recipiens *E. coli* törzsbe. Ez azt jelenti, hogy a CHASRI terjedését a különböző baktériumtörzsek és fajok között az antibiotikumok szelekciós nyomása elősegítheti. Mindkét konjugációs plazmid hordozta a RelBE3 toxin-antitoxin (TA) rendszert, ami fontos szerepet játszik a plazmidok megtartásában, ugyanis a „post-segregational killing” hatás miatt a plazmid nélküli utódsejtek elpusztulnak. A RelBE3 rendszer két részből áll, egy stabil toxinból (mRNS-t hasító RelE fehérje) és egy instabil antitoxinból (RelB fehérje, ami toxin-antitoxin komplex kialakításával semlegesíti a toxint) [252]. Ha a baktérium elveszíti a TA rendszert hordozó plazmidját, akkor a stabil toxin molekulák az instabil antitoxin fehérjék lebomlása után elpusztítják a baktérium

sejtet. Tehát a RelBE TA rendszer jelenléte a CHASRI hordozó plazmidokon biztosítja az ezüstreizisztencia fennmaradását mind a donor, mind a transzkonjugáns sejtekben.

Az ezüstreizisztencia kialakulása és elterjedése hatással lehet az ezüsttartalmú antimikrobiális textíliák alkalmazhatóságára is. Finley és mtsai. kísérletében egy-egy ezüst-rezisztens *K. pneumoniae* és *E. cloacae* izolátummal szemben többféle, a kereskedelmi forgalomban kapható ezüsttartalmú kötszer is hatástalannak bizonyult [253]. Finley és mtsai 50 ml (10^5 CFU/ml) baktériumszuszpenzióba helyezték a 31 mm átmérőjű kötszer korongokat, és folyamatos rázatás mellett vizsgálták a baktériumok számát. Eredményeikkel szemben az általunk megvizsgált 13 MRKP szülő és ezüst-rezisztens leszármazott törzs túlélőképessége nem mutatott szignifikáns különbségeket sem a kontroll, sem a T27-22-Silver lepedőn. A különbség oka az lehet, hogy mi száraz felületeken való túlélést vizsgáltunk és az MRKP törzsek igen érzékenyek bizonyultak a kiszáradással szemben. Ezüsttartalmú táplevesben a mi ezüst-rezisztens törzseink is magasabb növekedési képességeket mutattak.

Kutatásunk bebizonyította, hogy az ezüst-rezisztens fenotípus ezüstmentes környezetben is tartósan fennmaradhat, ráadásul konjugáció révén horizontálisan terjedhet a különböző baktériumtörzsek, illetve fajok között. A nemzetközileg elterjedt, magas kockázatú *K. pneumoniae* klónok CHASRI hordozása és ezüst-rezisztenciájának indukálhatósága aggodalomra adhat okot, mivel veszélyeztethetik az ezüstvegyületek egészségügyi alkalmazásának hatékonyságát. Megfigyeléseink hangsúlyozzák az ezüsttartalmú termékek körültekintő használatának szükségességét, különösen a *silver* gének gyakori hordozásának [141, 254], illetve az ezüstreizisztencia *Enterobacteriaceae* izolátumokban történő, akár *in vivo* megjelenésének ismeretében [141, 253].

7.3.2 Ezüstreizisztencia – *A. baumannii*

A szoktatási kísérletünk során vizsgált 15 MACI törzs egyikében sem sikerült ezüstreizisztenciát indukálnunk. Randall és mtsai. 2015-ben publikált *A. baumannii* izolátumokkal végzett kísérletei szintén sikertelenek voltak [165]. Legjobb tudomásunk szerint eddig mindösszesen kettő ezüst-rezisztens *A. baumannii* izolátumról szóló publikáció jelent meg. Az első, 1994-es tanulmányban Deshpande és mtsai. írtak le egy környezeti eredetű, ezüst-rezisztens (MIC-érték: 1 mM Ag^+) *A. baumannii* izolátumot [242]. Plazmid eliminációs kísérlettel, illetve sikeres transzkonjugáció és transzformáció révén bizonyították, hogy az ezüst-rezisztenciagének egy 54 kbp méretű plazmidon









(pUPI199) helyezkedtek el. Az ezüstrezisztencia stabilitása alacsony volt, ezüstmentes környezetben 9,4%-os fennmaradást mértek a szerzők. A transzformáns *E. coli* DH5 α (pUPI199) ezüstmentes környezetben csökkent növekedési képességeket mutatott a recipiens törzshöz képest. A második, 1998-as tanulmányban Shakibaie és mtsai. írtak le egy klinikai eredetű, ezüst-rezisztens (MIC-érték: 4 mM Ag⁺) *A. baumannii* izolátumot [255]. Az előzőekben említett módszerekkel bizonyították, hogy az ezüst-rezisztenciagének plazmidon kódoltak. A törzsek ezüstfelvételének vizsgálata alapján egy ezüstkötő fehérjét írtak le a rezisztencia hátterében [256]. Az említett publikációkon kívül csak közvetett bizonyítékok vannak az *Acinetobacter* spp. baktériumokban előforduló ezüstrezisztenciára. Például Singh és mtsai. egy *A. calcoaceticus* izolátum sejtmentes kivonatát használva AgNO₃ oldatból nanoezüstöt állítottak elő [257]. Az ezüstit oxidálni képes fehérjék ritkaságára utal, hogy 18 kipróbált *Acinetobacter* sp. izolátumból csak egynél volt sikeres a kísérlet.



Az ezüst-rezisztens *Acinetobacter* spp. izolátumok ritka előfordulására magyarázat adhat a nemzetségben elterjedt réz-homeosztázis és ezüstrezisztencia rendszerek típusa. A kromoszómális Cue- és Cus-, illetve az először plazmidon leírt Pco-rendszer jelenlétét hárommillió éves, permafroszt talajmintákból származó *Acinetobacter lwoffii* [258] és 2004–2009 között izolált, klinikai eredetű *A. baumannii* törzsekben is bizonyították [259]. Ugyanakkor sem a CHASRI-rendszert, sem önmagukban a *sil*-géneket [260] nem sikerült eddig kimutatni az *Acinetobacter* nemzetségben. Márpedig a kromoszómális Cue- és Cus-rendszerek önmagukban (egyéb mechanizmusok, pl. porinok elvesztése nélkül) csupán alacsony szintű réz- és ezüstrezisztenciát okozhatnak. A CHASRI hordozása azonban növelheti a baktérium réz- és ezüstrezisztenciájának mértékét. Ezt bizonyítja Staehlin és mtsai. kísérlete, melyben a CHASRI konjugációval történő felvétele megháromszorozta a kromoszómális Cue- és Cus-rendszerekkel rendelkező, recipiens *E. coli* réztolerancia értékét [158]. Az általunk vizsgált CHASRI hordozó MRKP és transzkonjugáns *E. coli* törzsek Ag⁺ MIC-értékei (50 mM Ag⁺) is jelentősen magasabbak voltak, mint Deshpande és mtsai. (MIC-érték 1 mM Ag⁺) [242], illetve Shakibaie és mtsai. (MIC-érték: 4 mM Ag⁺) [255] által leírt, ezüst-rezisztens *A. baumannii* izolátumoké. Sütterlin és mtsai. definíciója alapján (MIC > 3 mM Ag⁺) az előbbi törzs nem is számítana ezüst-rezisztensnek. Kísérleteink során azt is megállapítottuk, hogy a CHASRI hordozása növelheti az ezüstrezisztencia kialakulásának esélyét, ezüst jelenlétében pedig a baktériumok fitnessét is. Mindezek

figyelembe vételével úgy gondoljuk, hogy a MACI törzsek esetében az ezüstrezisztencia indukálásának sikertelenségét a *sil*-gének, illetve a CHASRI-rendszer hiánya okozhatta.

7.4 Eredményeink hasznosíthatósága

Az egészségügyi fertőzések megelőzéséhez elengedhetetlen az infékciónkontroll protokollok betartása (pl. megfelelő sterilizálás, fertőtlenítés, aszeptikus betegellátás, antibiotikumpolitika, folyamatos továbbképzések). Bízunk benne, hogy a MDRB túlélőképességével (12. táblázat) és az ezüstrezisztencia indukálhatóságával kapcsolatos eredményeink hozzájárulhatnak a megbiztonság növeléséhez.

Vizsgált körülmény	Gram-negatív		Gram-pozítív	
	MRKP	MACI	MRSA	VRE
„KONTROLL”	gyenge	erős	közepes	erős
„TÖRÖLKÖZŐ”	↑	↑	↑	↑
„TEST”	↓	↓	↓	↓
„TÁPANYAG”	↑	—	↑	—
„POLIÉSZTER”	—	↓	↑	↑
T99-19-QAC	↓ 	↓ 	↓ 	↓ 
T27-22-Silver	↓ 	↓ 	↓ 	↓ 

12. táblázat: Összefoglaló táblázat az öt vizsgált környezeti körülmény (1. táblázat) és a kétféle antimikrobiális hatóanyag hatásáról a 15-15 MRKP, MACI, MRSA és VRE törzs felületi túlélőképességére. A „KONTROLL” körülmény sorban a négy baktériumcsoport egymáshoz viszonyított átlagos túlélőképességét jellemeztem egy-egy szóval. A „↑” és „↓” szimbólumok a baktériumcsoportok szignifikánsan magasabb, illetve alacsonyabb túlélőképességét jelzik a „KONTROLL” körülményhez képest (párosított t-teszt, $p < 0,05$). A „” és „” szimbólumok mutatják, hogy az antimikrobiális lepedő alkalmazása ajánlható vagy nem ajánlható a baktériumcsoport okozta felületi kontamináció csökkentéséhez (Antimikrobiális Aktivitás Érték alapján).

Egészségügyi szempontból releváns időtartamokat, felületeket és MDRB-csoportokat vizsgáló kísérleteink alátámasztották, hogy a kontaminált egészségügyi textíliák fertőzésveszélyt jelenthetnek. Megállapítottuk, hogy a vizsgált környezeti paraméterek szignifikánsan befolyásolhatják a MDRB túlélőképességét textil felületeken (12. táblázat). A pamut törölközők biztosították a legmegfelelőbb körülményeket a MDRB fennmaradásához, de a szerves anyagok jelenléte is növelheti túlélőképességüket. Feltételezhetjük, hogy a széklettel, vérrel, verejttel, nyállal stb. szennyezett

egészségügyi textíliák hasonló hatást mutathatnak. Megállapítottuk, hogy a 35 °C-os hőmérséklet csökkenti a MDRB túlélőképességét. Hasonló hőmérsékleti körülmények fordulhatnak elő például a lázas beteg testével szoros kontaktusban lévő, vagy sebek kötözésére használt textíliák (pl. kötszerek, pólyák) esetében. Ilyen helyzetekben a baktériumok mellett szerves szennyezőanyagok is a textíliákra kerülhetnek (pl. verejték, sebváladékok), ezért ezek együttes hatásának vizsgálata érdekes lehet a későbbi kutatások során. A textíliák kémiai összetétele eltérően befolyásolta a Gram-negatív és Gram-pozitív MDRB túlélőképességét. Ennek ismerete hasznosnak bizonyulhat a fertőzések, járványok forrásának felkutatása során. Összességében megállapíthatjuk, hogy az egészségügyi textíliák okozta fertőzésveszély csökkentése érdekében nélkülözhetetlen a mosási protokollok szigorú betartása, különös tekintettel a textíliák gyakori cseréjére és magas hőfokon történő, fertőtlenítő mosására. A törölközők több személy általi, közös használata szigorúan kerülendő.

Eredményeink alapján az ezüsttartalmú kikészítőszer hatékonyan csökkenthetik a Gram-pozitív MDRB okozta kontamináció mértékét (12. táblázat), így egészségügyi alkalmazásuk növelheti a betegbiztonságot. Ugyanakkor egyik vizsgált antibakteriális textília sem volt képes eliminálni a Gram-negatív MDRB-at, ami további kutatásokat tesz szükségessé. Az antimikrobiális hatóanyagok összehasonlító elemzése során levont következtetéseink iránymutatóak lehetnek a jövőbeni kutatások módszertanának kidolgozásában.

Eredményeink felhívják a figyelmet az ezüstrezisztencia kialakulásának, elterjedésének lehetőségére, és ezáltal az antimikrobiális szerek körültekintő használatának szükségességére. Az ezüstvegyületek megfontolt, csak indokolt esetekben (pl. immunszuppresszált vagy súlyosan fertőző betegek ápolása során, intenzív és csecsemő intenzív osztályokon, égési sérülések és egyéb súlyos bőrfertőzések esetén) történő alkalmazása hozzájárulhat a hatóanyag alkalmazhatóságának hosszú távú megőrzéséhez.

8 ZÁRÓ KÖVETKEZTETÉSEK, TÉZISPONTOK

8.1 MDR baktériumok túlélőképessége kezeletlen textíliákon

Legjobb tudomásunk szerint először kutattuk kvantitatívan nagyszámú, genetikailag jól jellemzett, a nemzetközi epidemiológiai viszonyokat reprezentáló MDRB törzs túlélését

alapvető kórházi körülményeket modellezve. Eredményeink alapján a MDRB bármely megvizsgált textíliára kerülve fertőzésveszélyt jelenthetnek. A MACI és VRE törzsek mutatták a legmagasabb, a MRKP törzsek a legalacsonyabb túlélőképességet.

Megállapítottuk, hogy a környezeti körülmények (tápanyagok jelenléte, textíliák anyagösszetétele és szövése, a környezet hőmérséklete és páratartalma) szignifikánsan befolyásolhatják a MDRB kezeletlen textilfelületeken való túlélését. Minden MDRB szignifikánsan magasabb túlélőképességet mutatott frottír 100% pamut törölközőn, mint a kontrollként használt vászonkötésű pamut lepedőn. Elméletünk szerint a törölköző felületén a baktériumsejtek lassabban száradnak ki, ami csökkenti a vízelvonás okozta membrán, fehérje és nukleinsav károsodás mértékét és növeli a túlélőképességet.

A tápanyagok jelenléte szignifikánsan növelte a MRKP és MRSA törzsek túlélőképességét a tápanyagszegény inokuláló közeggel összehasonlítva. Elméletünk szerint a táplevesben lévő szerves anyagok a biofilmképző baktériumok által termelt exopoliszacharidokhoz hasonlóan megkötik a vízmolekulákat lassítva a sejtek kiszáradását és növelve a túlélőképességet. Az elméletet igazolja, hogy a tápanyagok jelenléte csak a szárítással szemben érzékenyebb MRKP és MRSA törzsek túlélőképességét növelte, a szárítással szemben ellenálló MACI és VRE törzsekét nem.

A textília kémiai összetétele eltérő módon befolyásolta a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumcsoportok túlélőképességét. A Gram-pozitív MRSA és VRE törzsek szignifikánsan magasabb, a Gram-negatív MACI törzsek szignifikánsan alacsonyabb túlélőképességet mutattak 100% poliészter lepedőn, mint 100% pamut lepedőn.

A testhez közeli textíliát modellező kísérletben, magasabb hőmérséklet és páratartalom mellett minden MDRB alacsonyabb túlélőképességet mutatott, mint kontroll körülmények között. Ennek oka lehetett, hogy alacsonyabb hőmérsékleten, alacsonyabb aktivitást mutatnak a baktériumok, így könnyebben elérhetnek egy nyugvó állapotot, ami növeli a túlélőképességüket.

Eredményeink segíthetik a MDRB egészségügyi intézményekben való terjedésének alaposabb megértését, hasznosnak bizonyulhatnak a fertőzések, járványok forrásának felkutatása során, illetve hozzájárulhatnak az infékciónkontroll protokollok fejlesztéséhez.

8.2 Antibakteriális textíliák hatékonysága

Legjobb tudomásunk szerint először vizsgáltuk meg két, a textiliparban széles körben alkalmazott antimikrobiális hatóanyagot tartalmazó kikészítőszer (Sanitized T27-22-Silver és T99-19-QAC) hatékonyságát nagyszámú, genetikailag jól jellemzett, a nemzetközi epidemiológiai viszonyokat reprezentáló MDRB törzssel szemben. Az adatok elemzéséhez kétféle, a tudományos publikációkban gyakran leírt módszert használtunk. Az eredményeket összevetettük négy, a kutatások során gyakran alkalmazott ATCC sztenderd törzs elleni hatékonysági adatokkal.

Az ezüst-klorid tartalmú T27-22-Silver hatóanyag szignifikáns antibakteriális hatékonyságot mutatott a Gram-pozitív MRSA és VRE baktériumok ellen. Egyik antibakteriális hatóanyag sem mutatott szignifikáns antibakteriális hatékonyságot a multidrog-rezisztens Gram-negatív MRKP és MACI törzsekkel szemben.

Az ATCC 25923 és ATCC 6538 *S. aureus* és az MRSA törzsek hasonló túlélőképességet mutattak a kezeletlen és az antibakteriális textíliákon egyaránt, ezért ezen sztenderdek használata ajánlható a hatékonyságvizsgálatok során. Meg kell jegyeznünk azonban, hogy vannak a száraz felületen magasabb túlélőképességet mutató baktériumfajok is például az általunk is vizsgált VRE. Az ATCC 25922 és ATCC 11105 *E. coli* törzsek valamennyi textília felületén alacsonyabb túlélőképességet mutattak, mint a multidrog-rezisztens Gram-negatív baktériumok, így alkalmazásuk nem javasolt a túlélési kísérletek és hatékonyságvizsgálatok során.. Ezen sztenderdek használatával alulbecsülhető a Gram-negatív baktériumok által szennyezett felületek okozta fertőzésveszély, illetve túlbecsülhető az antibakteriális hatóanyagok hatékonysága. Az antibakteriális hatékonyság méréséhez körültekintően kiválasztott, bizonyítottan jól túlélő MDRB törzsek használatát, az eredmények elemzéséhez az Antibakteriális Aktivitás Értéket javasoljuk.

Az antimikrobiális hatóanyagok hatékonyságának elemzése során levont következtetéseink iránymutatóak lehetnek a jövőbeni kutatások módszertanának kidolgozásában.

8.3 Ezüstrezisztencia (multidrog-rezisztens *K. pneumoniae*)

Legjobb tudomásunk szerint először vizsgáltuk globálisan elterjedt, magas kockázatú (ST15, ST11, ST258), illetve minor klónokhoz (ST274, ST25) tartozó MRKP törzsek ezüst-rezisztenciájának indukálhatóságát, a kialakult ezüstrezisztencia háttérében álló

genetikai mechanizmusokat, a szülő – ezüst-rezisztens leszármazott törzspárok fitnessét, és az ezüst-rezisztenciáért felelős rendszerek horizontális átvihetőségét.

15 MRKP törzsből 12-t sikerült hozzászoktatni az ezüst-nitráthoz (AgNO₃ MIC szülő törzsek: 4-8 mg/l, Ag-rezisztens törzsek: >8500 mg/l). Eredményeink rámutattak, hogy az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenése klonalitástól független az MRKP izolátumok esetében. Az ezüstrezisztencia indukálhatónak bizonyult mind globális, magas kockázatú (ST15, ST258, ST11), mind az ST274 minor MRKP klónok esetében. Az ezüst-rezisztens fenotípus ezüst nélkül is stabilan fennmaradt.

Legjobb tudomásunk szerint mi írtuk le először az ezüstrezisztencia gének sikeres átvitelét MRKP (ST15, ST11) és *E. coli* törzsek között. A CHASRI hordozó plazmidok fennmaradását a RelBE toxin-antitoxin rendszer biztosította a donor és transzkonjugáns törzsek esetében. A p5442 plazmid sikeres konjugációjával bizonyítottuk Sütterlin és mtsai. elméletét, miszerint az ezüstrezisztencia kialakulásához elegendő a CHASRI rendszer *silS* génjének egy pontos nukleotid polimorfizmusa. MRKP törzsekben először írtuk le az ezüstrezisztencia kialakulásának hátterében a kromozómális *cusS* és *ompK36* gének mutációit.

Megállapítottuk, hogy sem a CHASRI-rendszer, sem a kromozómális Cus-rendszer mutációi révén kialakult ezüstrezisztencia nem jelent érdemleges növekedési hátrányt ezüstmentes környezetben. Ezüstvegyületek jelenlétében a CHASRI rendszer hordozása fontos szelektív előnyt jelenthet a baktériumok számára, egyrészt a nagyobb növekedési képesség, másrészt az ezüst-rezisztens fenotípus megjelenésének megnövekedett esélye miatt.

A nemzetközileg elterjedt, magas kockázatú MRKP klónok CHASRI hordozása az ezüstrezisztencia indukálhatósága és horizontális terjeszthetősége révén veszélyeztetheti az ezüstvegyületek egészségügyi alkalmazásának hatékonyságát. Eredményeink bővítik az ezüst-rezisztencia kialakulásával, molekuláris mechanizmusával, horizontális átvihetőségével kapcsolatos ismereteket, és felhívják a figyelmet az antibakteriális hatóanyagok körültekintő alkalmazásának fontosságára.

9 ÖSSZEFOGLALÓ

A MDRB okozta nozokomiális fertőzések világszerte komoly problémát jelentenek. A MDRB felületi túlélőképességének, az antibakteriális textíliák hatékonyságának és az antimikrobiális szerek elleni rezisztencia mechanizmusának alaposabb megismerése hozzájárulhat a fertőzések megelőzését célzó intézkedések fejlesztéséhez. Kutatásunk során négy MDRB-csoport (MRKP, MRSA, MACI, VRE) 15-15, a nemzetközi epidemiológiai viszonyokat reprezentáló törzsét vizsgáltuk meg kvantitatívan.

Megállapítottuk, hogy a MDRB a megvizsgált textíliákra kerülve fertőzésveszélyt jelenthetnek. A környezeti körülmények (textília anyagösszetétele, kötése, tápanyagok, hőmérséklet, relatív páratartalom) szignifikánsan befolyásolhatják a túlélő MDRB csíraszámát. Valamennyi MDRB pamut törölköző felületén mutatta a legnagyobb, az emberi test közelségét modellező (35°C, 83% Rh, pamut lepedő) körülményben pedig a legalacsonyabb túlélőképességet. A tápanyagok jelenléte szignifikánsan növelte a MRKP és MRSA törzsek túlélőképességét. A Gram-pozitív törzsek szignifikánsan magasabb, a Gram-negatív törzsek alacsonyabb túlélőképességet mutattak 100% poliészter lepedőn.

A T27-22-Silver lepedő szignifikáns antibakteriális hatékonyságot mutatott a Gram-pozitív baktériumok ellen, ugyanakkor sem a T27-22-Silver, sem a T99-19-QAC nem eliminálta a MRKP és MACI törzseket. Az ATCC 25923 és ATCC 6538 *S. aureus*-ok jól jellemzik az MRSA törzsek túlélését, de a kísérletekhez ajánljuk más, magasabb túlélőképességet mutató Gram-pozitív baktériumok (pl. VRE) alkalmazását is. Az ATCC 25922 és ATCC 11105 *E. coli*-k alkalmazásával túlbecsülhető a hatóanyagok hatékonysága a Gram-negatív patogének ellen. Az antibakteriális hatékonyság méréséhez az Antibakteriális Aktivitás Érték alkalmazását javasoljuk.

Megállapítottuk, hogy az ezüstrezisztencia néhány lépéses szoktatás során indukálható mind a magas kockázatú (ST15, ST11, ST258), mind az ST274 minor MRKP klón esetében. Bizonyítottuk, hogy az Ag-rezisztencia kialakulásához elegendő a CHASRI rendszer *silS* génjének egy pontos nukleotid polimorfizmusa. MRKP törzsekben először írtuk le az Ag-rezisztencia hátterében a kromoszómális *cusS* és *ompK36* gének mutációit. Először írtuk le az ezüstrezisztencia gének sikeres horizontális átvitelét MRKP (ST15, ST11) és *E. coli* törzsek között.

10 SUMMARY

Healthcare-associated infections caused by multidrug-resistant bacteria (MDRB) are among the most serious public health problems globally. The systematic studies of (i) survival capability of MDRB on textiles, (ii) the effectiveness of antibacterial textiles and (iii) the development and mechanism of biocide resistance can contribute to the improvement of infection control protocols. We examined quantitatively the survival of 60 MDR strains of four healthcare-associated bacterial groups (15 MRKP, 15 MRSA, 15 MACI, 15 VRE) that correspond to global molecular epidemiological trends.

Each MDRB strain was able to survive on textiles in an extent to pose health risk. The environmental conditions (weave and composition of textiles, nutrients, temperature, relative humidity) can affect the number of CFUs of surviving MDRB significantly. Each MDRB showed the highest survival capability on cotton towel and the lowest survival in the condition that modelled close contact with a patient's body (35 °C, 83% Rh, cotton sheet). The presence of nutrients increased the survival capability of MRKPs and MRSA significantly. Compared to control the Gram-positive and Gram-negative strains showed significantly higher and lower survival capability on 100% polyester sheet, respectively.

The T27-22 Silver sheet showed significant antibacterial activity against Gram-positive bacteria, but neither T27-22-Silver nor T99-19-QAC sheets were able to eliminate the Gram-negative MRKPs and MACIs. The ATCC 25923 and ATCC 6538 *S. aureus* strains had similar survival capability and biocide-tolerance to MRSA, however we recommend the examination of other, better-surviving Gram-positive bacteria (e.g. VREs) as well. Using the ATCC 25922 and ATCC 11105 *E. coli* strains the efficiency of antibacterial agents can be overestimated against MDR Gram-negative pathogens. For antibacterial efficiency tests we recommend the use of Antibacterial Activity Value.

We found that silver-resistance can arise in high-risk (ST15, ST11, ST258) and in ST274 minor MRKP clones as well. We proved that only one SNP in the *silS* gene (CHASRI system) is sufficient condition to develop silver resistance. We first described mutations in chromosomally encoded *cusS* and *ompK36* genes causing silver resistance in an MRKP strain. We proved that silver resistance genes can be horizontally transferred from high-risk MRKPs (ST15, ST11) to *E. coli* strain.

11 IRODALMI HIVATKOZÁSOK LISTÁJA

1. Böröcz, K., É. Kende, and E. Szilágyi, *A Johan Béla Országos Epidemiológiai Központ tájékoztatója a nosocomialis surveillance során alkalmazandó módszerekről*. Epinfo. Vol. 9. 2002, Budapest, Hungary: Fodor József Országos Közegészségügyi Központ. 56.
2. Garner, J.S., et al., *CDC definitions for nosocomial infections, 1988*. American Journal of Infection Control, 1988. **16**(3): p. 128-140.
3. Cardoso, T., et al., *Classification of healthcare-associated infection: a systematic review 10 years after the first proposal*. BMC medicine, 2014. **12**(1): p. 40-52.
4. Khan, H.A., A. Ahmad, and R. Mehboob, *Nosocomial infections and their control strategies*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2015. **5**(7): p. 509-514.
5. World Health Organisation (WHO): *Prevention of hospital-acquired infections*. Malta: 2002.
6. Ulrich, R. *Effects of Single Versus Multi-Bed Rooms on Outcomes*. in Welsh Health Estates and IHEEM Conference. 2006. Cardiff, United Kingdom.
7. Sexton, T., et al., *Environmental reservoirs of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in isolation rooms: correlation with patient isolates and implications for hospital hygiene*. Journal of Hospital Infection, 2006. **62**(2): p. 187-194.
8. Hardy, K.J., et al., *A study of the relationship between environmental contamination with methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and patients' acquisition of MRSA*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2006. **27**(2): p. 127-132.
9. Dancer, S., et al., *Antibiotic use is associated with resistance of environmental organisms in a teaching hospital*. Journal of Hospital Infection, 2006. **62**(2): p. 200-206.
10. Borkow, G. and J. Gabbay, *Biocidal textiles can help fight nosocomial infections*. Medical Hypotheses, 2008. **70**(5): p. 990-994.
11. Cohen, B., et al., *Association Between Healthcare-Associated Infection and Exposure to Hospital Roommates and Previous Bed Occupants with the Same Organism*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2018. **39**(5): p. 541-546.
12. World Health Organization (WHO): *Guidelines on core components of infection prevention and control programmes at the national and acute healthcare facility level*. Geneva, Switzerland: 2016.
13. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): *Point prevalence survey of healthcare-associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals*. Stockholm: 2013.
14. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015 - Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net)*. Stockholm: 2017.
15. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): *Annual epidemiological report - Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections*. Stockholm: 2015.
16. ÁNTSZ: *Az országos tisztifőorvos tájékoztatója a Nemzeti Nosocomialis Surveillance Rendszer (NNSR) 2016. évi eredményeiről*. Budapest: 2017.
17. Bergogne-Berezin, E. and K. Towner, *Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features*. Clinical Microbiology Reviews, 1996. **9**(2): p. 148-165.

18. Uhlemann, A.-C., et al., *Evolution of community-and healthcare-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Infection, Genetics and Evolution, 2014. **21**: p. 563-574.
19. Fisher, K. and C. Phillips, *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus*. Microbiology, 2009. **155**(6): p. 1749-1757.
20. Podschun, R. and U. Ullmann, *Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors*. Clinical Microbiology Reviews, 1998. **11**(4): p. 589-603.
21. Waksman, S.A., *History of the word 'Antibiotic'*. Journal of the History of Medicine and Allied Sciences, 1973. **28**(3): p. 284-286.
22. Alanis, A.J., *Resistance to antibiotics: are we in the post-antibiotic era?* Archives of Medical Research, 2005. **36**(6): p. 697-705.
23. Hawkey, P.M., *The origins and molecular basis of antibiotic resistance*. BMJ: British Medical Journal, 1998. **317**(7159): p. 657-660.
24. Wyres, K.L. and K.E. Holt, *Klebsiella pneumoniae Population Genomics and Antimicrobial-Resistant Clones*. Trends in Microbiology, 2016. **24**(12): p. 944-956.
25. Poirel, L., R.A. Bonnin, and P. Nordmann, *Genetic basis of antibiotic resistance in pathogenic Acinetobacter species*. IUBMB Life, 2011. **63**(12): p. 1061-1067.
26. Schito, G., *The importance of the development of antibiotic resistance in Staphylococcus aureus*. Clinical Microbiology and Infection, 2006. **12**(s1): p. 3-8.
27. Hollenbeck, B.L. and L.B. Rice, *Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus*. Virulence, 2012. **3**(5): p. 421-569.
28. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): Technical report - Proposals for EU guidelines on the prudent use of antimicrobials in humans. Stockholm: 2017.
29. Davies, J., *Vicious circles: looking back on resistance plasmids*. Genetics, 1995. **139**(4): p. 1465-1468.
30. Magiorakos, A.P., et al., *Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance*. Clinical Microbiology and Infection, 2012. **18**(3): p. 268-281.
31. D'agata, E.M., *Rapidly rising prevalence of nosocomial multidrug-resistant, Gram-negative bacilli: a 9-year surveillance study*. Infection Control & Hospital Epidemiology, 2004. **25**(10): p. 842-846.
32. Rice, L.B., *Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESCAPE*. Journal of Infectious Diseases, 2008. **197**(8): p. 1079-1081.
33. Peterson, L.R., *Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited*. Clinical Infectious Diseases, 2009. **49**(6): p. 992-993.
34. Pitout, J.D., P. Nordmann, and L. Poirel, *Carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae, a key pathogen set for global nosocomial dominance*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015. **59**(10): p. 5873-5884.
35. Xu, L., X. Sun, and X. Ma, *Systematic review and meta-analysis of mortality of patients infected with carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2017. **16**:18(1): p. 1-12.
36. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC): Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: 2017.

37. Fang, C.-T., et al., *A novel virulence gene in Klebsiella pneumoniae strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications*. Journal of Experimental Medicine, 2004. **199**(5): p. 697-705.
38. Cubero, M., et al., *Hypervirulent Klebsiella pneumoniae clones causing bacteraemia in adults in a teaching hospital in Barcelona, Spain (2007–2013)*. Clinical Microbiology and Infection, 2016. **22**(2): p. 154-160.
39. Pichler, C., et al., *First report of invasive liver abscess syndrome with endophthalmitis caused by a K2 serotype ST2398 hypervirulent Klebsiella pneumoniae in Germany, 2016*. New Microbes and New Infections, 2017. **17**: p. 77-80.
40. Rossi, B., et al., *Hypervirulent Klebsiella pneumoniae in cryptogenic liver abscesses, Paris, France*. Emerging Infectious Diseases, 2018. **24**(2): p. 221-229.
41. Livermore, D.M., *beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance*. Clinical Microbiology Reviews, 1995. **8**(4): p. 557-584.
42. Waksman, S.A., E. Bugie, and A. Schatz, *Isolation of Antibiotic Substances from Soil Micro-Organisms, with special reference to Streptothricin and Streptomycin*. Proceedings of Staff Meetings of the Mayo Clinic, 1944. **19**(23): p. 537-548.
43. Navon-Venezia, S., K. Kondratyeva, and A. Carattoli, *Klebsiella pneumoniae: a major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance*. FEMS Microbiology Reviews, 2017. **41**(3): p. 252-275.
44. Doi, Y. and Y. Arakawa, *16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides*. Clinical Infectious Diseases, 2007. **45**(1): p. 88-94.
45. Mózes, J., *Az antibiotikum fogyasztás és a rezisztenciamechanizmusok epidemiológiájának kapcsolata nem fermentáló nozokomiális kórokozók esetében*; Ph.D. Disszertáció, 2015. Debreceni Egyetem, Debrecen.
46. Redgrave, L.S., et al., *Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success*. Trends in Microbiology, 2014. **22**(8): p. 438-445.
47. Falagas, M.E., S.K. Kasiakou, and L.D. Saravolatz, *Colistin: the revival of polymyxins for the management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections*. Clinical infectious diseases, 2005. **40**(9): p. 1333-1341.
48. Li, J., et al., *Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections*. The Lancet Infectious Diseases, 2006. **6**(9): p. 589-601.
49. Liu, Y.-Y., et al., *Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study*. The Lancet Infectious Diseases, 2016. **16**(2): p. 161-168.
50. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Atlas of Infectious Diseases [Internet]. Stockholm: ECDC; [cited 2018.07.01.]. Available from <https://ecdc.europa.eu/en/surveillance-atlas-infectious-diseases>
51. Dijkshoorn, L., A. Nemeč, and H. Seifert, *An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. Nature Reviews Microbiology, 2007. **5**(12): p. 939-951.
52. Peleg, A.Y., H. Seifert, and D.L. Paterson, *Acinetobacter baumannii: emergence of a successful pathogen*. Clinical Microbiology Reviews, 2008. **21**(3): p. 538-582.
53. Dijkshoorn, L., et al., *Prevalence of Acinetobacter baumannii and other Acinetobacter spp. in faecal samples from non-hospitalised individuals*. Clinical Microbiology and Infection, 2005. **11**(4): p. 329-332.
54. Perez, F., et al., *Global challenge of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2007. **51**(10): p. 3471-3484.

55. Poirel, L. and P. Nordmann, *Carbapenem resistance in Acinetobacter baumannii: mechanisms and epidemiology*. Clinical Microbiology and Infection, 2006. **12**(9): p. 826-836.
56. Zarrilli, R., et al., *Global evolution of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii clonal lineages*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2013. **41**(1): p. 11-19.
57. Diancourt, L., et al., *The population structure of Acinetobacter baumannii: expanding multiresistant clones from an ancestral susceptible genetic pool*. PLoS One, 2010. **5**(4): p. e10034 (1-17).
58. Melles, M., *OEK működése 2015-ben*. 2016, Budapest, Hungary: DURSUSZ Kiadó-, Nyomda-, és Reklámszolgáltató Bt. 240.
59. Tóth, Á., et al. *Molecular epidemiology of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii in Hungary, 2011-2016: spread of an OXA-72-producing Acinetobacter baumannii clone*. in 27th ECCMID, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2017. Vienna, Austria.
60. Stryjewski, M.E. and G.R. Corey, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: an evolving pathogen*. Clinical Infectious Diseases, 2014. **58**(suppl_1): p. S10-S19.
61. Wilson, L.G., *The early recognition of streptococci as causes of disease*. Medical History, 1987. **31**(4): p. 403-414.
62. Wertheim, H.F., et al., *The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections*. The Lancet Infectious Diseases, 2005. **5**(12): p. 751-762.
63. Almatroudi, A., et al., *Staphylococcus aureus dry-surface biofilms are not killed by sodium hypochlorite: implications for infection control*. Journal of Hospital Infection, 2016. **93**(3): p. 263-270.
64. Australian Group on Antimicrobial Resistance (AGAR) participants, 2000–14.: MRSA: A Tale of Three Types. Sydney, Australia: 2016.
65. Rammelkamp, C.H. and T. Maxon, *Resistance of Staphylococcus aureus to the Action of Penicillin*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1942. **51**(3): p. 386-389.
66. Bondi Jr, A. and C.C. Dietz, *Penicillin resistant staphylococci*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1945. **60**(1): p. 55-58.
67. Jevons, M.P., *“Celbenin”-resistant staphylococci*. British Medical Journal, 1961. **1**(5219): p. 124.
68. Wu, S., et al., *Tracking the evolutionary origin of the methicillin resistance gene: cloning and sequencing of a homologue of mecA from a methicillin susceptible strain of Staphylococcus sciuri*. Microbial Drug Resistance, 1996. **2**(4): p. 435-441.
69. García-Álvarez, L., et al., *Meticillin-resistant Staphylococcus aureus with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study*. The Lancet Infectious Diseases, 2011. **11**(8): p. 595-603.
70. Hiramatsu, K., et al., *Genomic basis for methicillin resistance in Staphylococcus aureus*. Infection & Chemotherapy, 2013. **45**(2): p. 117-136.
71. Paterson, G.K., E.M. Harrison, and M.A. Holmes, *The emergence of mecC methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Trends in Microbiology, 2014. **22**(1): p. 42-47.
72. Bassetti, M., et al., *New antibiotics for bad bugs: where are we?* Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2013. **12**(1): p. 22-36.
73. Chan, L.C., et al., *Ceftobiprole-and ceftaroline-resistant methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2015. **59**(5): p. 2960-2963.

74. Cziráok, É., *Klinikai és Járványügyi Bakteriológiai Kézikönyv*, ed. O.K. Intézet. 1999, Budapest, Hungary: Melania kiadó. 819.
75. Finch, R.J., et al., *Antibiotic and Chemotherapy: Anti-infective agents and their use in therapy*. American Journal of Pharmaceutical Education, 2004. **68**(3): p. 1-5.
76. Griffith, R.S., *Vancomycin use—an historical review*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 1984. **14**(suppl_D): p. 1-5.
77. Liu, C. and H.F. Chambers, *Staphylococcus aureus with heterogeneous resistance to vancomycin: epidemiology, clinical significance, and critical assessment of diagnostic methods*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003. **47**(10): p. 3040-3045.
78. Gemmell, C.G., *Glycopeptide resistance in Staphylococcus aureus: is it a real threat?* Journal of Infection and Chemotherapy, 2004. **10**(2): p. 69-75.
79. Howden, B.P., et al., *Reduced vancomycin susceptibility in Staphylococcus aureus, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications*. Clinical Microbiology Reviews, 2010. **23**(1): p. 99-139.
80. Tóth, A., et al., *First report of heterogeneously vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus (hVISA) causing fatal infection in Hungary*. Journal of Chemotherapy, 2008. **20**(5): p. 655-656.
81. Appelbaum, P.C., *Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2007. **30**(5): p. 398-408.
82. Livermore, D., *The zeitgeist of resistance*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007. **60**(suppl_1): p. i59-i61.
83. Bal, A., et al., *Genomic insights into the emergence and spread of international clones of healthcare-, community- and livestock-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus: Blurring of the traditional definitions*. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2016. **6**: p. 95-101.
84. Ungvári, E., et al. *Molecular characterization of clonal complex 398 (CC398) methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) isolates in humans in Hungary: emergence of a PVLpositive MRSA ST1232*. in 28th ECCMID, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2018. Madrid, Spain.
85. Moreno, M.F., et al., *The role and application of enterococci in food and health*. International Journal of Food Microbiology, 2006. **106**(1): p. 1-24.
86. Klein, G., *Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract*. International Journal of Food Microbiology, 2003. **88**(2-3): p. 123-131.
87. Top, J., R. Willems, and M. Bonten, *Emergence of CC17 Enterococcus faecium: from commensal to hospital-adapted pathogen*. FEMS Immunology & Medical Microbiology, 2008. **52**(3): p. 297-308.
88. Poh, C., H. Oh, and A. Tan, *Epidemiology and clinical outcome of enterococcal bacteraemia in an acute care hospital*. Journal of Infection, 2006. **52**(5): p. 383-386.
89. Böröcz, K., *Vancomycin-rezisztens enterococcus (VRE) fertőzések megelőzése az egészségügyi intézményekben*. Epiinfo, 2004. **42**: p. 522-526.
90. Portillo, A., et al., *Macrolide Resistance Genes in Enterococcus spp.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000. **44**(4): p. 967-971.
91. Niebel, M., et al., *Deletions in a ribosomal protein-coding gene are associated with tigecycline resistance in Enterococcus faecium*. International Journal of Antimicrobial agents, 2015. **46**(5): p. 572-575.

92. Guzman Prieto, A.M., et al., *Global emergence and dissemination of enterococci as nosocomial pathogens: attack of the clones?* *Frontiers in Microbiology*, 2016. **7:788**: p. 1-15.
93. Zapun, A., C. Contreras-Martel, and T. Vernet, *Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance*. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008. **32**(2): p. 361-385.
94. Rice, L.B., et al., *Enterococcus faecium low-affinity pbp5 is a transferable determinant*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005. **49**(12): p. 5007-5012.
95. Chow, J.W., *Aminoglycoside resistance in enterococci*. *Clinical Infectious Diseases*, 2000. **31**(2): p. 586-589.
96. Leclercq, R., et al., *Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in Enterococcus faecium*. *New England Journal of Medicine*, 1988. **319**(3): p. 157-161.
97. Al-Nassir, W.N., et al., *Both oral metronidazole and oral vancomycin promote persistent overgrowth of vancomycin-resistant enterococci during treatment of Clostridium difficile-associated disease*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2008. **52**(7): p. 2403-2406.
98. Grima, D.T., G.F. Webb, and E. D'Agata, *Mathematical model of the impact of a nonantibiotic treatment for Clostridium difficile on the endemic prevalence of vancomycin-resistant enterococci in a hospital setting*. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2012. **2012**: p. 1-8.
99. Arthur, M. and R. Quintiliani, *Regulation of VanA-and VanB-type glycopeptide resistance in enterococci*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2001. **45**(2): p. 375-381.
100. Fűzi, M., et al., *Vancomycin-rezisztens enterococcus törzsek izolálása Magyarországon*. *Infektológia és klinikai mikrobiológia*, 1998. **3**.
101. Böröcz, K., et al., *First vancomycin-resistant Enterococcus faecium outbreak reported in Hungary*. *Weekly releases (1997–2007)*, 2005. **10**(4): p. 2625.
102. Leavis, H.L., M.J. Bonten, and R.J. Willems, *Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance*. *Current Opinion in Microbiology*, 2006. **9**(5): p. 454-460.
103. Mahony, A.A., et al., *Vancomycin-resistant Enterococcus faecium sequence type 796-rapid international dissemination of a new epidemic clone*. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 2018. **7:44**(1): p. 1-9.
104. Arias, C.A. and B.E. Murray, *The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance*. *Nature Reviews Microbiology*, 2012. **10**(4): p. 266-278.
105. Raven, K.E., et al., *A decade of genomic history for healthcare-associated Enterococcus faecium in the United Kingdom and Ireland*. *Genome Research*, 2016. **26**(10): p. 1388-1396.
106. Gao, W., B.P. Howden, and T.P. Stinear, *Evolution of virulence in Enterococcus faecium, a hospital-adapted opportunistic pathogen*. *Current Opinion in Microbiology*, 2018. **41**: p. 76-82.
107. Baquero, F., T.M. Coque, and R. Canton, *Antibiotics, Complexity, and Evolution-Perspective-Antibiotic usage increases disorder at different biological levels, promoting the emergence of alternative orders in the microbiosphere*. *ASM News-American Society for Microbiology*, 2003. **69**(11): p. 547-552.
108. *Textil-, és ruhaipari anyag- és áruismeret*. 2 ed. 2001, Budapest, Veszprém: Magyar Divat Intézet Kft., Göttinger Kiadó. 127.
109. Esteve-Turrillas, F. and M. de la Guardia, *Environmental impact of Recover cotton in textile industry*. *Resources, Conservation and Recycling*, 2017. **116**: p. 107-115.

110. Manian, F.A., et al., *Isolation of Acinetobacter baumannii complex and methicillin-resistant Staphylococcus aureus from hospital rooms following terminal cleaning and disinfection: can we do better?* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2011. **32**(7): p. 667-672.
111. Martínez, J.A., et al., *Role of environmental contamination as a risk factor for acquisition of vancomycin-resistant enterococci in patients treated in a medical intensive care unit.* Archives of Internal Medicine, 2003. **163**(16): p. 1905-1912.
112. Mitchell, A., M. Spencer, and C. Edmiston, *Role of healthcare apparel and other healthcare textiles in the transmission of pathogens: a review of the literature.* Journal of Hospital Infection, 2015. **90**(4): p. 285-292.
113. Wiener-Well, Y., et al., *Nursing and physician attire as possible source of nosocomial infections.* American Journal of Infection Control, 2011. **39**(7): p. 555-559.
114. Stiefel, U., et al., *Contamination of hands with methicillin-resistant Staphylococcus aureus after contact with environmental surfaces and after contact with the skin of colonized patients.* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2011. **32**(2): p. 185-187.
115. Morgan, D.J., et al., *Transfer of multidrug-resistant bacteria to healthcare workers' gloves and gowns after patient contact increases with environmental contamination.* Critical Care Medicine, 2012. **40**(4): p. 1045-1051.
116. Bhalla, A., et al., *Acquisition of nosocomial pathogens on hands after contact with environmental surfaces near hospitalized patients.* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2004. **25**(2): p. 164-167.
117. Ohl, M., et al., *Hospital privacy curtains are frequently and rapidly contaminated with potentially pathogenic bacteria.* American Journal of Infection Control, 2012. **40**(10): p. 904-906.
118. Hayden, M.K., et al., *Risk of Hand or Glove Contamination After Contact With Patients Colonized With Vancomycin-Resistant Enterococcus or the Colonized Patients' Environment.* Risk, 2008. **29**(2): p. 149-154.
119. Randle, J., A. Arthur, and N. Vaughan, *Twenty-four-hour observational study of hospital hand hygiene compliance.* Journal of Hospital Infection, 2010. **76**(3): p. 252-255.
120. Dancer, S.J., *Importance of the environment in methicillin-resistant Staphylococcus aureus acquisition: the case for hospital cleaning.* Lancet Infectious Diseases, 2008. **8**(2): p. 101-113.
121. Griffith, C., et al., *An evaluation of hospital cleaning regimes and standards.* Journal of Hospital Infection, 2000. **45**(1): p. 19-28.
122. van't Veen, A., et al., *Outbreak of infection with a multiresistant Klebsiella pneumoniae strain associated with contaminated roll boards in operating rooms.* Journal of Clinical Microbiology, 2005. **43**(10): p. 4961-4967.
123. Zanetti, G., et al., *Importation of Acinetobacter baumannii into a burn unit: a recurrent outbreak of infection associated with widespread environmental contamination.* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2007. **28**(6): p. 723-725.
124. Falk, P.S., et al., *Outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a burn unit.* Infection Control & Hospital Epidemiology, 2000. **21**(9): p. 575-582.
125. Weinstein, R.A. and B. Hota, *Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection?* Clinical Infectious Diseases, 2004. **39**(8): p. 1182-1189.

126. Otter, J.A., et al., *Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings*. American Journal of Infection Control, 2013. **41**(5): p. S6-S11.
127. Gupta, P., et al., *Bacterial contamination of nurses' white coats made from polyester and polyester cotton blend fabrics*. Journal of Hospital Infection, 2016. **94**(1): p. 92-94.
128. Vikke, H.S. and M. Giebner, *UniStatus-a cross-sectional study on the contamination of uniforms in the Danish ambulance service*. BMC Research Notes, 2015. **8:95**(1): p. 1-6.
129. Mitchell, A.H., et al., *The Changing Role of the Healthcare Environment*. Clin Lab Sci, 2016. **29**(1): p. 44-48.
130. Bhaskara, U.R., *Antibacterial textiles*; PHD dissertation, 2015. University of Twente, The Netherlands.
131. Takashima, M., et al., *Distinctive bacteria-binding property of cloth materials*. American Journal of Infection Control, 2004. **32**(1): p. 27-30.
132. Kramer, A., I. Schwebke, and G. Kampf, *How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review*. BMC Infectious Diseases, 2006. **6**(130): p. 1-8.
133. Riley, K., et al., *The Effect of Low Temperature Laundering and Detergents on the Survival of Escherichia coli and Staphylococcus aureus on Textiles Used in Healthcare Uniforms*. Journal of Applied Microbiology, 2017. **123**(1): p. 280-286.
134. Wagenvoort, J., et al., *Environmental survival of vancomycin-resistant Enterococcus faecium*. Journal of Hospital Infection, 2011. **77**(3): p. 282-283.
135. Neely, A.N., *Persistence of micro-organisms on common hospital surfaces: strategies to control their dissemination*. Infection Control Resource, 2008. **4**(4): p. 1, 4-7.
136. Fouda, M.M., *Antibacterial Modification of Textiles Using Nanotechnology*, in *A Search for Antibacterial Agents*, V. Bobbarala, Editor. 2012, InTech: Rijeka, Croatia. p. 47-72.
137. Sondi, I. and B. Salopek-Sondi, *Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria*. Journal of Colloid and Interface Science, 2004. **275**(1): p. 177-182.
138. Alexander, J.W., *History of the medical use of silver*. Surgical Infections, 2009. **10**(3): p. 289-292.
139. Windler, L., M. Height, and B. Nowack, *Comparative evaluation of antimicrobials for textile applications*. Environment International, 2013. **53**: p. 62-73.
140. Weber, D.J. and W.A. Rutala, *Self-disinfecting surfaces: review of current methodologies and future prospects*. American Journal of Infection Control, 2013. **41**(5): p. 31-35.
141. Sütterlin, S., et al., *High frequency of silver resistance genes in invasive isolates of Enterobacter and Klebsiella species*. Journal of Hospital Infection, 2017. **96**(3): p. 256-261.
142. Silver, S., *Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds*. FEMS Microbiology Reviews, 2003. **27**(2-3): p. 341-353.
143. McDonnell, G. and A.D. Russell, *Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance*. Clinical Microbiology Reviews, 1999. **12**(1): p. 147-179.
144. Messaoud, M., et al., *Photocatalytic generation of silver nanoparticles and application to the antibacterial functionalization of textile fabrics*. Journal of Photochemistry and Photobiology. A: Chemistry, 2010. **215**(2): p. 147-156.
145. Besinis, A., T. De Peralta, and R.D. Handy, *The antibacterial effects of silver, titanium dioxide and silica dioxide nanoparticles compared to the dental disinfectant*

- chlorhexidine on Streptococcus mutans using a suite of bioassays*. *Nanotoxicology*, 2014. **8**(1): p. 1-16.
146. Russell, A., *Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon*. *Journal of Hospital Infection*, 2004. **57**(2): p. 97-104.
 147. Gottenbos, B., et al., *In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber*. *Biomaterials*, 2002. **23**(6): p. 1417-1423.
 148. Yu, Q., Z. Wu, and H. Chen, *Dual-function antibacterial surfaces for biomedical applications*. *Acta Biomaterialia*, 2015. **16**: p. 1-13.
 149. Yudovin-Farber, I., et al., *Antibacterial effect of composite resins containing quaternary ammonium polyethyleneimine nanoparticles*. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010. **12**(2): p. 591-603.
 150. Messaoud, M., et al., *Quaternary ammonium-based composite particles for antibacterial finishing of cotton-based textiles*. *Journal of Materials Science & Technology*, 2014. **30**(1): p. 19-29.
 151. Yudovin-Farber, I., et al., *Quaternary ammonium polyethyleneimine: antibacterial activity*. *Journal of Nanomaterials*, 2010. **2010**:**46**: p. 1-11.
 152. Ashjaran, A., et al., *Investigation On The Antimicrobial Effect Of Ammonyx On Some Pathogenic Microbes Observed On Sweatshirt Sport*. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 2010. **4**(4): p. 248-251.
 153. Gerba, C.P., *Quaternary ammonium biocides: efficacy in application*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015. **81**(2): p. 464-469.
 154. Russell, A., *Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria*. *Journal of Applied Microbiology*, 2002. **92**: p. 121S-135S.
 155. Gilbert, P., D. Allison, and A. McBain, *Biofilms in vitro and in vivo: do singular mechanisms imply cross-resistance?* *Journal of Applied Microbiology*, 2002. **92**(s1): p. 98S-110S.
 156. Mc Cay, P.H., A.A. Ocampo-Sosa, and G.T. Fleming, *Effect of subinhibitory concentrations of benzalkonium chloride on the competitiveness of Pseudomonas aeruginosa grown in continuous culture*. *Microbiology*, 2010. **156**(1): p. 30-38.
 157. Fernández-Cuenca, F., et al., *Reduced susceptibility to biocides in Acinetobacter baumannii: association with resistance to antimicrobials, epidemiological behaviour, biological cost and effect on the expression of genes encoding porins and efflux pumps*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2015. **70**(12): p. 3222-3229.
 158. Staehlin, B.M., et al., *Evolution of a heavy metal homeostasis/resistance island reflects increasing copper stress in enterobacteria*. *Genome Biology and Evolution*, 2016. **8**(3): p. 811-826.
 159. Bondarczuk, K. and Z. Piotrowska-Seget, *Molecular basis of active copper resistance mechanisms in Gram-negative bacteria*. *Cell Biology and Toxicology*, 2013. **29**(6): p. 397-405.
 160. Hobman, J.L. and L.C. Crossman, *Bacterial antimicrobial metal ion resistance*. *Journal of Medical Microbiology*, 2015. **64**(5): p. 471-497.
 161. Gudipaty, S.A., et al., *Regulation of Cu (I)/Ag (I) efflux genes in Escherichia coli by the sensor kinase CusS*. *FEMS microbiology letters*, 2012. **330**(1): p. 30-37.
 162. Mijndonckx, K., et al., *Antimicrobial silver: uses, toxicity and potential for resistance*. *Biomaterials*, 2013. **26**(4): p. 609-621.

163. Delmar, J.A., C.-C. Su, and E.W. Yu, *Bacterial multidrug efflux transporters*. Annual Review of Biophysics, 2014. **43**: p. 93-117.
164. Gupta, A., et al., *Molecular basis for resistance to silver cations in Salmonella*. Nature Medicine, 1999. **5**(2): p. 183-188.
165. Randall, C.P., et al., *Silver resistance in Gram-negative bacteria: a dissection of endogenous and exogenous mechanisms*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015. **70**(4): p. 1037-1046.
166. Jelenko 3rd, C., *Silver nitrate resistant E. coli: report of case*. Annals of Surgery, 1969. **170**(2): p. 296-299.
167. Sütterlin, S., et al., *Effects of silver-based wound dressings on the bacterial flora in chronic leg ulcers and its susceptibility in vitro to silver*. Acta Dermato-venereologica, 2012. **92**(1): p. 34-39.
168. Hilgenberg, B., A. Prange, and L. Vossebein, *Testing and regulation of antimicrobial textiles*, in *Antimicrobial Textiles*, G. Sun, Editor. 2016, Woodhead Publishing: Duxford, UK. p. 7-19.
169. ISO20743:2013(E), *ISO 20743:2013(E). Textiles - Determination of antibacterial activity of textile products*. 2013.
170. Wendt, C., et al., *Survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces*. Journal of Clinical Microbiology, 1997. **35**(6): p. 1394-1397.
171. Wendt, C., et al., *Survival of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci on dry surfaces*. Journal of Clinical Microbiology, 1998. **36**(12): p. 3734-3736.
172. Hanczvikkel, A., et al. *Survival of high risk, multiresistant bacterial strains in abiotic environment*. in ICEEE - 2014 5th International Conference. 2014. Budapest.
173. EUCAST and ESCMID, *European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution*. Clinical Microbiology and Infection, 2003. **9**(8): p. 9-15.
174. Tóth, Á., et al., *Fitness cost associated with resistance to fluoroquinolones is diverse across clones of Klebsiella pneumoniae and may select for CTX-M-15 type extended-spectrum β -lactamase*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2014. **33**(5): p. 837-843.
175. Sambrook, J. and D.W. Russell, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd ed. Vol. 2. 2001, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2344.
176. Zankari, E., et al., *Identification of acquired antimicrobial resistance genes*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012. **67**(11): p. 2640-2644.
177. Carattoli, A., et al., *PlasmidFinder and pMLST: in silico detection and typing of plasmids*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2014. **58**(7): p. 3895-3903.
178. Jolley, K.A. and M.C. Maiden, *BIGSdb: scalable analysis of bacterial genome variation at the population level*. BMC bioinformatics, 2010. **11**(1): p. 595-606.
179. Werner, G., et al., *Host range of enterococcal vanA plasmids among Gram-positive intestinal bacteria*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010. **66**(2): p. 273-282.
180. Jánvári, L., et al., *Emergence of OXA-162-producing Klebsiella pneumoniae in Hungary*. Scandinavian Journal of Infectious Diseases, 2014. **46**(4): p. 320-324.
181. Damjanova, I., et al., *Dissemination of ST274 Klebsiella pneumoniae epidemic clone in newborn and adult hospital settings harbouring SHV-2A or CTX-M-15 type extended*

- spectrum β -lactamases-producing known plasmids*. European Journal of Microbiology and Immunology, 2011. **1**(3): p. 223-227.
182. Toth, A., et al., *Emergence of a colistin-resistant KPC-2-producing Klebsiella pneumoniae ST258 clone in Hungary*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2010. **29**(7): p. 765-769.
 183. Damjanova, I., et al., *Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type β -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae epidemic clones in Hungary in 2005—the new ‘MRSA’s’?* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008. **62**(5): p. 978-985.
 184. Damjanova, I., et al., *Epidemiology of SHV-type β -lactamase-producing Klebsiella spp. from outbreaks in five geographically distant Hungarian neonatal intensive care units: widespread dissemination of epidemic R-plasmids*. International Journal of Antimicrobial Agents, 2007. **29**(6): p. 665-671.
 185. Oelberg, D.G., et al., *Detection of pathogen transmission in neonatal nurseries using DNA markers as surrogate indicators*. Pediatrics, 2000. **105**(2): p. 311-315.
 186. Burden, M., et al., *Newly cleaned physician uniforms and infrequently washed white coats have similar rates of bacterial contamination after an 8-hour workday: A randomized controlled trial*. Journal of Hospital Medicine, 2011. **6**(4): p. 177-182.
 187. Fijan, S., D. Pahor, and S. Šostar Turk, *Survival of Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa on cotton*. Textile Research Journal, 2016. **87**(14): p. 1711-1721.
 188. Neely, A.N. and M.P. Maley, *Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic*. Journal of Clinical Microbiology, 2000. **38**(2): p. 724-726.
 189. Foster, W. and M. Hutt, *Experimental staphylococcal infections in man*. The Lancet, 1960. **276**(7165): p. 1373-1376.
 190. Noble, W., *The production of subcutaneous staphylococcal skin lesions in mice*. British Journal of Experimental Pathology, 1965. **46**(3): p. 254-262.
 191. Malnick, S., et al., *Pyjamas and sheets as a potential source of nosocomial pathogens*. Journal of Hospital Infection, 2008. **70**(1): p. 89-92.
 192. Oller, A.R. and A. Mitchell, *Staphylococcus aureus recovery from cotton towels*. Journal of Infection in Developing Countries, 2009. **3**(03): p. 224-228.
 193. Paladini, F., et al., *In vitro assessment of the antibacterial potential of silver nano-coatings on cotton gauzes for prevention of wound infections*. Materials, 2016. **9**(6): p. 411-424.
 194. Bajpai, V., et al., *Microbial adherence on textile materials: A review*. Journal of Environmental Research and Development, 2011. **5**(3): p. 666-672.
 195. Dastjerdi, R. and M. Montazer, *A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: focus on anti-microbial properties*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **79**(1): p. 5-18.
 196. Borkow, G. and J. Gabbay, *Preventing pathogens proliferation and reducing potential sources of nosocomial infections with biocidal textiles in developing countries*. The Open Biology Journal, 2010. **3**: p. 81-86.
 197. Gupta, D., *Antimicrobial treatments for textiles*. Indian Journal of Fibre and Textile Research, 2007. **32**: p. 254-263.
 198. Billi, D. and M. Potts, *Life and death of dried prokaryotes*. Research in Microbiology, 2002. **153**(1): p. 7-12.
 199. Potts, M., *Desiccation tolerance of prokaryotes*. Microbiological Reviews, 1994. **58**(4): p. 755-805.

200. Dohmae, S., et al., *Bacillus cereus* nosocomial infection from reused towels in Japan. *Journal of Hospital Infection*, 2008. **69**(4): p. 361-367.
201. Nguyen, D.M., L. Mascola, and E. Brancoft, *Recurring methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in a football team*. *Emerging Infectious Diseases*, 2005. **11**(4): p. 526-532.
202. Jawad, A., et al., *Influence of relative humidity and suspending menstrua on survival of Acinetobacter spp. on dry surfaces*. *Journal of Clinical Microbiology*, 1996. **34**(12): p. 2881-2887.
203. Hirai, Y., *Survival of bacteria under dry conditions; from a viewpoint of nosocomial infection*. *Journal of Hospital Infection*, 1991. **19**(3): p. 191-200.
204. Elmros, T., *Survival of Neisseria gonorrhoeae on surfaces*. *Acta Dermatovenereologica*, 1976. **57**(2): p. 177-180.
205. Espinal, P., S. Marti, and J. Vila, *Effect of biofilm formation on the survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces*. *Journal of Hospital Infection*, 2012. **80**(1): p. 56-60.
206. Helke, D.M. and A.C. Wong, *Survival and growth characteristics of Listeria monocytogenes and Salmonella typhimurium on stainless steel and Buna-N rubber*. *Journal of Food Protection*, 1994. **57**(11): p. 963-968.
207. Wilks, S., H. Michels, and C. Keevil, *The survival of Escherichia coli O157 on a range of metal surfaces*. *International Journal of Food Microbiology*, 2005. **105**(3): p. 445-454.
208. Williams, A., et al., *Persistence of Escherichia coli O157 on farm surfaces under different environmental conditions*. *Journal of Applied Microbiology*, 2005. **98**(5): p. 1075-1083.
209. Colclasure, V.J., et al., *Coliform bacteria, fabrics, and the environment*. *American Journal of Infection Control*, 2015. **43**(2): p. 154-158.
210. Wasif, A. and S. Laga, *Use of nano silver as an antimicrobial agent for cotton*. *AUTEX Res J*, 2009. **9**(1): p. 5-13.
211. Refai, R., A. El-Shafei, and M.E.-B. Hashem, *One-Step Process for Dual Antimicrobial and Easy Care Finishing of Cotton Fabric*. *International Journal of Advanced Research*, 2015. **3**(3): p. 1043-1053.
212. Budimir, A., S.B. Vukusic, and S.G. Flincec, *Study of antimicrobial properties of cotton medical textiles treated with citric acid and dried/cured by microwaves*. *Cellulose*, 2012. **19**(1): p. 289-296.
213. Gutarowska, B., et al., *Antimicrobial activity and filtration effectiveness of nonwovens with Sanitized for respiratory protective equipment*. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 2014. **22**(3(105)): p. 120-125.
214. Prorokova, N., et al., *Chemical method of fibrous materials surface activation on the basis of polyethylene terephthalate (PET)*. *Chemistry & Chemical Technology*, 2014(8,№ 3): p. 293-302.
215. Arain, R.A., et al., *Antibacterial property and characterization of cotton fabric treated with chitosan/AgCl-TiO₂ colloid*. *Carbohydrate Polymers*, 2013. **96**(1): p. 326-331.
216. Kulthong, K., et al., *Determination of silver nanoparticle release from antibacterial fabrics into artificial sweat*. *Particle and Fibre Toxicology*, 2010. **7**(1): p. 1-9.
217. Lorenz, C., et al., *Characterization of silver release from commercially available functional (nano) textiles*. *Chemosphere*, 2012. **89**(7): p. 817-824.

218. Gopinath, V., et al., *Biogenic synthesis of antibacterial silver chloride nanoparticles using leaf extracts of Cissus quadrangularis Linn.* Materials Letters, 2013. **91**: p. 224-227.
219. Suchomel, P., et al., *Comparative study of antimicrobial activity of AgBr and Ag nanoparticles (NPs).* PloS one, 2015. **10**(3): p. e0119202 (1-15).
220. Assessment of nanosilver in textiles on the Danish market. Environmental Project No. 1432, 2012 Copenhagen: 2012.
221. Benn, T., et al., *The release of nanosilver from consumer products used in the home.* Journal of Environmental Quality, 2010. **39**(6): p. 1875-1882.
222. Erdem, A.K. and N.O.S. Yurudu, *The evaluation of antibacterial activity of fabrics impregnated with dimethyltetradecyl (3-(trimethoxysilyl) propyl) ammonium chloride.* IUFS Journal of Biology, 2008. **67**(2): p. 115-122.
223. Brady, M.J., et al., *Persistent silver disinfectant for the environmental control of pathogenic bacteria.* American Journal of Infection Control, 2003. **31**(4): p. 208-214.
224. Baxa, D., et al., *In vitro evaluation of a novel process for reducing bacterial contamination of environmental surfaces.* American Journal of Infection Control, 2011. **39**(6): p. 483-487.
225. Gerba, C.P., et al., *Wide-spectrum activity of a silver-impregnated fabric.* American Journal of Infection Control, 2016. **44**(6): p. 689-690.
226. Hanh, T.T., et al., *Preparation of silver nanoparticles fabrics against multidrug-resistant bacteria.* Radiation Physics and Chemistry, 2016. **121**: p. 87-92.
227. Jawad, A., et al., *Survival of Acinetobacter baumannii on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates.* Journal of Clinical Microbiology, 1998. **36**(7): p. 1938-1941.
228. Beard-Pegler, M.A., E. Stubbs, and A.M. Vickery, *Observations on the resistance to drying of staphylococcal strains.* Journal of Medical Microbiology, 1988. **26**(4): p. 251-255.
229. Wagenvoort, J., W. Sluijsmans, and R. Penders, *Better environmental survival of outbreak vs. sporadic MRSA isolates.* Journal of Hospital Infection, 2000. **45**(3): p. 231-234.
230. Horváth, A., et al., *Varying fitness cost associated with resistance to fluoroquinolones governs clonal dynamic of methicillin-resistant Staphylococcus aureus.* European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 2012. **31**(8): p. 2029-2036.
231. Wisplinghoff, H., et al., *Resistance to disinfectants in epidemiologically defined clinical isolates of Acinetobacter baumannii.* Journal of Hospital Infection, 2007. **66**(2): p. 174-181.
232. Schwaiger, K., et al., *Insusceptibility to disinfectants in bacteria from animals, food and humans—is there a link to antimicrobial resistance?* Frontiers in Microbiology, 2014. **5**:88: p. 1-12.
233. Braga, T., *Enterococcus and biocides: mechanisms of tolerance and selection for vancomycin resistance*; PHD Dissertation, 2011. Universidade Nova de Lisboa, Oeiras.
234. Lambert, R., *Comparative analysis of antibiotic and antimicrobial biocide susceptibility data in clinical isolates of methicillin-sensitive Staphylococcus aureus, methicillin-resistant Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa between 1989 and 2000.* Journal of Applied Microbiology, 2004. **97**(4): p. 699-711.
235. Hasman, H. and F.M. Aarestrup, *tcxB, a gene conferring transferable copper resistance in Enterococcus faecium: occurrence, transferability, and linkage to macrolide and*

- glycopeptide resistance*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2002. **46**(5): p. 1410-1416.
236. Lansdown, A.B., *Silver in health care: antimicrobial effects and safety in use*, in *Biofunctional textiles and the skin*, U.-C. Hipler and P. Elsner, Editors. 2006, Karger Publishers: Basel, Switzerland. p. 17-34.
 237. Buffet-Bataillon, S., et al., *Efflux pump induction by quaternary ammonium compounds and fluoroquinolone resistance in bacteria*. Future Microbiology, 2016. **11**(1): p. 81-92.
 238. Mchugh, G.L., et al., *Salmonella typhimurium resistant to silver nitrate, chloramphenicol, and ampicillin: A new threat in burn units?* The Lancet, 1975. **305**(7901): p. 235-240.
 239. Davis, I., H. Richards, and P. Mullany, *Isolation of silver-and antibiotic-resistant Enterobacter cloacae from teeth*. Oral Microbiology and Immunology, 2005. **20**(3): p. 191-194.
 240. Miyazaki, N.H.T., et al., *The presence of qacA/B gene in Brazilian methicillin-resistant Staphylococcus aureus*. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2007. **102**(4): p. 539-540.
 241. Zhang, M., et al., *Prevalence of antiseptic-resistance genes in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci colonising nurses and the general population in Hong Kong*. Journal of Hospital Infection, 2011. **78**(2): p. 113-117.
 242. Deshpande, L.M. and B.A. Chopade, *Plasmid mediated silver resistance in Acinetobacter baumannii*. Biometals, 1994. **7**(1): p. 49-56.
 243. Fraise, A., *Susceptibility of antibiotic-resistant cocci to biocides*. Journal of Applied Microbiology, 2002. **92**(s1): p. 158-162.
 244. Kang, C.K., et al., *Antibacterial cotton fibers treated with silver nanoparticles and quaternary ammonium salts*. Carbohydrate Polymers, 2016. **151**: p. 1012-1018.
 245. Deng, H., et al., *Mechanistic study of the synergistic antibacterial activity of combined silver nanoparticles and common antibiotics*. Environmental Science & Technology, 2016. **50**(16): p. 8840-8848.
 246. Zhang, C., et al., *Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment*. Science of The Total Environment, 2015. **518**: p. 352-362.
 247. Tezel, U. and S.G. Pavlostathis, *Quaternary ammonium disinfectants: microbial adaptation, degradation and ecology*. Current Opinion in Biotechnology, 2015. **33**: p. 296-304.
 248. Wijnhoven, S.W., et al., *Nano-silver—a review of available data and knowledge gaps in human and environmental risk assessment*. Nanotoxicology, 2009. **3**(2): p. 109-138.
 249. Benn, T.M. and P. Westerhoff, *Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics*. Environmental Science & Technology, 2008. **42**(11): p. 4133-4139.
 250. Trop, M., et al., *Silver-coated dressing acticoat caused raised liver enzymes and argyria-like symptoms in burn patient*. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 2006. **60**(3): p. 648-652.
 251. Dutzler, R., et al., *Crystal structure and functional characterization of OmpK36, the osmoporin of Klebsiella pneumoniae*. Structure, 1999. **7**(4): p. 425-434.
 252. Wei, Y.-Q., et al., *Prediction of type II toxin-antitoxin loci in Klebsiella pneumoniae genome sequences*. Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences, 2016. **8**(2): p. 143-149.

253. Finley, P.J., et al., *Unprecedented silver resistance in clinically isolated Enterobacteriaceae: major implications for burn and wound management*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2015. **59**(8): p. 4734-4741.
254. Elkrewi, E., et al., *Cryptic silver resistance is prevalent and readily activated in certain Gram-negative pathogens*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2017. **72**(11): p. 3043-3046.
255. Shakibaie, M., et al., *Plasmid mediated silver and antibiotic resistance in Acinetobacter baumannii BL54*. Iran J Med Sci, 1998. **23**(12): p. 30-36.
256. Shakibaie, M., et al., *Silver resistance in Acinetobacter baumannii BL54 occurs through binding to a Ag-binding protein*. Iranian Journal of Biotechnology, 2003. **1**(1): p. 41-46.
257. Singh, R., et al., *Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from Acinetobacter calcoaceticus and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics*. International Journal of Nanomedicine, 2013. **8**: p. 4277-4290.
258. Mindlin, S., et al., *Resistance of permafrost and modern Acinetobacter lwoffii strains to heavy metals and arsenic revealed by genome analysis*. BioMed Res. Int., 2016(2016:3970831. doi:10.1155/2016/3970831).
259. Williams, C.L., et al., *Copper resistance of the emerging pathogen Acinetobacter baumannii*. Applied and Environmental Microbiology, 2016. **82**(20): p. 6174-6188.
260. Woods, E., C. Cochrane, and S. Percival, *Prevalence of silver resistance genes in bacteria isolated from human and horse wounds*. Veterinary Microbiology, 2009. **138**(3-4): p. 325-329.

12 A TÉZISPONTOKHOZ KAPCSOLÓDÓ SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

12.1 MDR baktériumok túlélőképessége kezeletlen textíliákon

1. **Hanczvikkell, A.**; Berta, B.; Tirczka, T.; Bayoumi, H. Hosam and Tóth, Á.: *Survival of high risk, multiresistant bacterial strains in abiotic environment*, in 5th ICEEE-2014 International Conference: Global Environmental Change and Population Health: Progress and Challenges, 19-21 November 2014. Óbuda University, Budapest, Hungary. ISBN 978-615-5460; pp. 60-70.
2. **Hanczvikkell, A.** and Tóth, Á.: *The role of fabric composition, nutrients, temperature and humidity in the survival capability of multidrug-resistant bacterial pathogens*, in 9th Central European Conference (Fibre – Grade Polymers, Chemical Fibres and Special Textiles). 11-13 September 2017. Technical University of Liberec, Czech Republic. ISBN 978-80-7494-356-0; pp. 120-121.
3. **Hanczvikkell, A.** and Tóth, Á.: *Quantitative study about the role of environmental conditions in the survival capability of multidrug-resistant bacteria*, Journal of Infection and Public Health, pp. 1-6, Published online: 18 May 2018, <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.05.001> **IF: 2,1**

12.2 Antibakteriális textíliák hatékonysága

4. **Hanczvikkell, A.**; Víg, A.; Bayoumi, H. Hosam and Tóth, Á.: *Multirezisztens, nozokomiális baktériumtörzsek túlélése antibakteriális hatóanyagokkal kezelt pamutszöveten*. Magyar Textiltechnika, TMTE. 2016. **LXVIII**. HU ISSN 2060-453X; pp. 2-10.
5. **Hanczvikkell, A.**; Víg, A. and Tóth, Á.: *Survivability of high risk, multiresistant bacteria on cotton treated with commercially available antimicrobial agents*; in IFATCC XXIV International Congress, 13-16 June 2016, University of Pardubice, Czech Republic. ISBN: 978-80-906086-8-9; pp. 282-285.

6. **Hanczvikkell, A.**; Víg, A. and Tóth, Á.: *Survival capability of healthcare-associated, multidrug-resistant bacteria on untreated and on antimicrobial textiles.* Journal of Industrial Textiles, pp. 1-23, Published online: 24 January 2018 <https://doi.org/10.1177/1528083718754901> **IF: 1,3**

12.3 Ezüstrezisztencia (multidrog-rezisztens *K. pneumoniae*)

7. **Hanczvikkell, A.**; Tóth, Á.: *Silver-susceptibility of multidrug resistant nosocomial Gram-positive and Gram-negative pathogens.* Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, 2015. **62** (Suppl), DOI: 10.1556/030.62.2015.Suppl.2. p. 156.
8. **Hanczvikkell, A.**; Füzi, M.; Ungvári, E.; and Tóth, Á.: *Transmissible silver resistance readily evolves in high-risk clone isolates of Klebsiella pneumoniae;* Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, pp. 1-17, Published online: 25 July 2018, <https://doi.org/10.1556/030.65.2018.031> **IF: 1,1**

13 TOVÁBBI SAJÁT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Hanczvikkell, A.; Tirczka, T.; Berta, B.; Bayoumi H. Hosam and Tóth, Á.: *Serotyping Streptococcus pneumoniae strains isolated from invasive pneumococcal disease and investigating their antimicrobial resistance;* in 4th ICEEE–2013 International Conference: To Protect our Global Environment for Future Generations, 20-22 November 2013, Óbuda University, Budapest, Hungary. ISBN: 978-615-5018-93-0; pp. 171-180.

Nagy, E.; **Hanczvikkell, A.** and Telegdi, J.: *Biologically active polyesters for biomedical applications.* in ICDLIT International Conference on Design and Light Industry Technologies, 19-20 November 2014, Óbuda University, Budapest, Hungary (poster)

Németh, Á.; Kocsis, V.; Rakhimova, S.; Víg, A.; Gombkötő, J. and **Hanczvikkell, A.**: *New Testing Method for the Evaluation of Biocide Efficacy of Antimicrobial Finished Fabrics.* in IFATCC XXIV International Congress, 13-16 June 2016, University of Pardubice, Czech Republic. ISBN: 978-80-906086-8-9; pp. 396-398.

14 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A legnagyobb köszönettel és hálával témavezetőmnek, Dr. Tóth Ákosnak tartozom. Kimagasló szakmai hozzáértése, kutatói elkötelezettsége és mentori attitűdje példaértékű a számomra. Iránymutatása, támogatása, biztató szavai a legnehezebb pillanatokban is erőt adtak a munka folytatásához, nélküle nem születhetett volna meg ez a dolgozat.

Köszönettel tartozom egyetemi konzulensemnek, Dr. Bayoumi H. Hosamnak, akinek témakiírása nélkül sohasem fogtam volna bele e kutatásba.

Köszönöm Dr. Borsa Judit Tanárnőnek, hogy észrevételeivel, tapasztalataival támogatta a munkámat, tanácsokkal és biztatással segített továbblendülni a holtponatokon, és mindig kész volt eligazítani az adminisztráció útvesztőiben.

Köszönöm az Országos Közegészségügyi Intézetnek, hogy biztosította a feltételeket a laboratóriumi munkához, és támogatta tanulmányaimat.

Köszönöm az Országos Közegészségügyi Intézet Bakteriológia I. osztály minden dolgozójának, hogy bizalommal fordulhattam hozzájuk a kérdéseimmel. Külön szeretném megköszönni Topf Júliának, Torma Andreának, Jánvári Laurának, Tirczka Tamásnak és Berta Brigittának hogy szárnyaik alá véve eligazítottak a laboratóriumban, hogy befogadtak a csapatba ☺, és hogy mindig pozitív, derűs légkörben dolgozhattam.

Köszönöm Dr. Víg Andrásnak (BME), Dr. Füzi Miklósnak (SOTE) és Ungvári Erikának (OKI), hogy társszerzőként segítettek a publikációink elkészültét.

Köszönöm az INNOVATEXT Textilipari Műszaki Fejlesztő és Vizsgáló Intézet Zrt.-nek a vizsgálathoz használt textiliákat, Tóth Árpádnak és a Clariant Hungária Kft.-nek a Sanitized hatóanyagokat. Nagyon köszönöm Frank Zsuzsanna (BME) segítségét a pamut lepedő antibakteriális kikészítésében.

Köszönöm Drága Szüleimnek, hogy feltétel nélkül szeretnek, mindig, mindenben mellettem állnak és támogatnak.

Végül, de nem utolsó sorban hálás köszönettel tartozom, Életem Párjának, Vörös Gyulának, aki nemcsak a statisztikai értékelések kivitelezésében és angoltudásom csiszolásában segített, de Társam a mindennapokban, támogat, megnevette, inspirál és motivál.

15 MELLÉKLET

Táblázat A: 15 vizsgált nozokomiális *K. pneumoniae* törzs adatai. **Félkövér** kiemeléssel és színes háttérrel az előkísérletben használt törzseket jelöltük (zöld: legacsonyabb, sárga: medián, piros: legmagasabb túlélőképességű törzs)

faj	A MDRB rövidítése	A bakteriális törzs kódja	Mintavétel ideje	Jellemző antibiotikum rezisztencia	Tipizálási adatok	WGS vizsgálatban a törzs kódja
					Klonalitás - szekvencia típusok	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	06-5219-EB	2006	CTX-M-15	minor - ST274	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	08-5509-EB	2008	SHV-12, KPC-2	CG258 - ST258	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	98-312-EB	1998	SHV-2a	minor - ST25	K5312
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	05-5149-EB	2005	CTX-M-15	CG14/15 - ST15	K5149
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	08-5024-EB	2008	SHV-2a	minor - ST274	K5024
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	11-5723-EB	2011	CTX-M, DHA-1	CG258 - ST11	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	09-5132-EB	2009	SHV-12, KPC-2	CG258 - ST258	K5132
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	12-5802-EB	2012	CTX-M-15, VIM-4	CG14/15 - ST15	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	12-5737-EB	2012	CTX-M-15, DHA-1	CG258 - ST11	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	05-5442-EB	2005	CTX-M-15	CG258 - ST11	K5442
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	12-6004-EB	2012	CTX-M-15, VIM-4	CG14/15 - ST15	K6004
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	13-5668-EB	2013	CTX-M-15, VIM-4	CG14/15 - ST15	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	05-5404-EB	2005	CTX-M-15	CG14/15 - ST15	---
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	12-5825-EB	2012	CTX-M-15, OXA-162	CG14/15 - ST15	K5825
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MRKP	14-5029-EB	2014	CTX-M-15, VIM-4	CG14/15 - ST15	---

Rövidítések

MRKP	Multidrog-rezisztens <i>Klebsiella pneumoniae</i>	
CTX-M-15, SHV-2a, SHV-12	különböző ESBL (extended spectrum- β -lactamase) gének	
DHA-1	szerezett AmpC-típusú β -laktamáz gén	
KPC-2, VIM-4, OXA-162	különböző típusú karbapenemáz gének	
CG	Clonal group (klonális csoport)	
ST	Sequence-type (szekvencia típus)	
WGS	Whole Genome Sequencing (teljes genom szekvenálás)	

Táblázat B: A 15 vizsgált nozokomiális *A. baumannii* törzs adatai. **Félkövér** kiemeléssel és színes háttérrel az előkísérletben használt törzseket jelöltük (zöld: legalacsonyabb, sárga: medián, piros: legmagasabb túlélőképességű törzs)

faj	A MDRB rövidítése	A bakteriális törzs kódja	Mintavétel ideje	Jellemző antibiotikum rezisztencia	Tipizálási adatok
					Klonalitás - szekvencia típusok
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	13-10020-MB	2013	OXA-23, OXA-51	CC2 - ST2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	13-10034-MB	2013	OXA-51, OXA-58	CC2 - ST2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	13-10120-MB	2013	OXA-23, OXA-51	sporadikus
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	13-10266-MB	2013	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	13-10347-MB	2013	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10032-MB	2011	OXA-51	CC2 - ST2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10095-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10109-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10130-MB	2011	OXA-51, OXA-58	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10152-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC2 - ST2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10111-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10182-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10160-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10089-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST81
<i>Acinetobacter baumannii</i>	MACI	11-10194-MB	2011	OXA-23, OXA-51	CC1 - ST81

Rövidítések

MACI	Multidrog-rezisztens <i>Acinetobacter baumannii</i>
OXA-23, OXA-58	karbapenem-hidrolizáló, az Ambler-D osztályba tartozó β -laktamáz gének
CC	Clonal complex (klonális komplex)
ST	Sequence-type (szekvencia típus)

Táblázat C: A 15 vizsgált nozokomiális *S. aureus* törzs adatai. **Félkövér** kiemeléssel és színes háttérrel az előkísérletben használt törzseket jelöltük (zöld: legalacsonyabb, sárga: medián, piros: legmagasabb túlélőképességű törzs)

faj	A MDRB rövidítése	A bakteriális törzs kódja	Mintavétel ideje	Jellemző antibiotikum rezisztencia	Tipizálási adatok
					Klonalitás - szekvencia típusok
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	HU-11-006	2011	mecA	CC398 - ST398-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	HU-11-024	2011	mecA	EMRSA-15 (ST22-IV)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	HU-11-054	2011	mecA	EMRSA-15 (ST22-IV)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	HU-11-091	2011	mecA	NewYork/Japan (ST5-II)
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	HU-11-108	2011	mecA	ST8-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	14-183-MS	2014	mecA	ST45-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	12-292-MS	2012	mecA	ST1-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	10-134-MS	2010	mecA	ST1-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	CA-MRSA	10-238-MS	2010	mecA	ST37-IV
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	11-186-MS	2011	mecA	NewYork/Japan (ST5-II)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	06-65-MS	2006	mecA	NewYork/Japan (ST5-II)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	06-104-MS	2006	mecA	NewYork/Japan (ST5-II)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	06-196-MS	2006	mecA	NewYork/Japan (ST5-II)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	07-164-MS	2007	mecA	EMRSA-15 (ST22-IV)
<i>Staphylococcus aureus</i>	HA-MRSA	07-167-MS	2007	mecA	EMRSA-15 (ST22-IV)

Rövidítések

CA-MRSA	Community-acquired (közösségben szerzett) methicillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
HA-MRSA	Healthcare-associated (egészségügyi ellátással összefüggő) methicillin-rezisztens <i>Staphylococcus aureus</i>
mecA	PBP2a fehérjét kódoló gén, mely minden β -laktám antibiotikummal szemben rezisztenciát okoz
CC	Clonal complex (klonális komplex)
ST	Sequence-type (szekvencia típus)

Táblázat D: A 15 vizsgált nozokomiális *E. faecium* törzs adatai. **Félkövér** kiemeléssel és színes háttérrel az előkísérletben használt törzseket jelöltük (zöld: legalacsonyabb, sárga: medián, piros: legmagasabb túlélőképességű törzs)

faj	A MDRB rövidítése	A bakteriális törzs kódja	Mintavétel ideje	Jellemző antibiotikum rezisztencia	Tipizálási adatok
					Klonalitás - szekvencia típusok
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	13-45183-EO	2013	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45015-EO	2012	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45086-EO	2012	vanB	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	13-45039-EO	2013	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	13-45043-EO	2013	vanB	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45007-EO	2012	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45018-EO	2012	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45006-EO	2012	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	13-45179-EO	2013	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	12-45012-EO	2012	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	14-45101-EO	2014	vanB	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	14-45116-EO	2014	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	13-45054-EO	2013	vanB	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	14-45075-EO	2014	vanA	CC17
<i>Enterococcus faecium</i>	VRE	14-45046-EO	2014	vanA	CC17

Rövidítések

VRE	Vankomicin-rezisztens <i>Enterococcus faecium</i>
vanA, vanB	Vankomicin rezisztencia gének
CC	Clonal complex (klonális komplex)