

4. Félévi beszámoló

Óbudai Egyetem
Anyagtudományok és Technológiák Doktori Iskola

Téma: Könnyűipari termékek antibakteriális hatékonyságának jellemzése

Doktorandusz: Hanczvikkel Adrienn

Témavezetők: Dr. habil. Bayoumi Hamuda Hosam
dr. Tóth Ákos



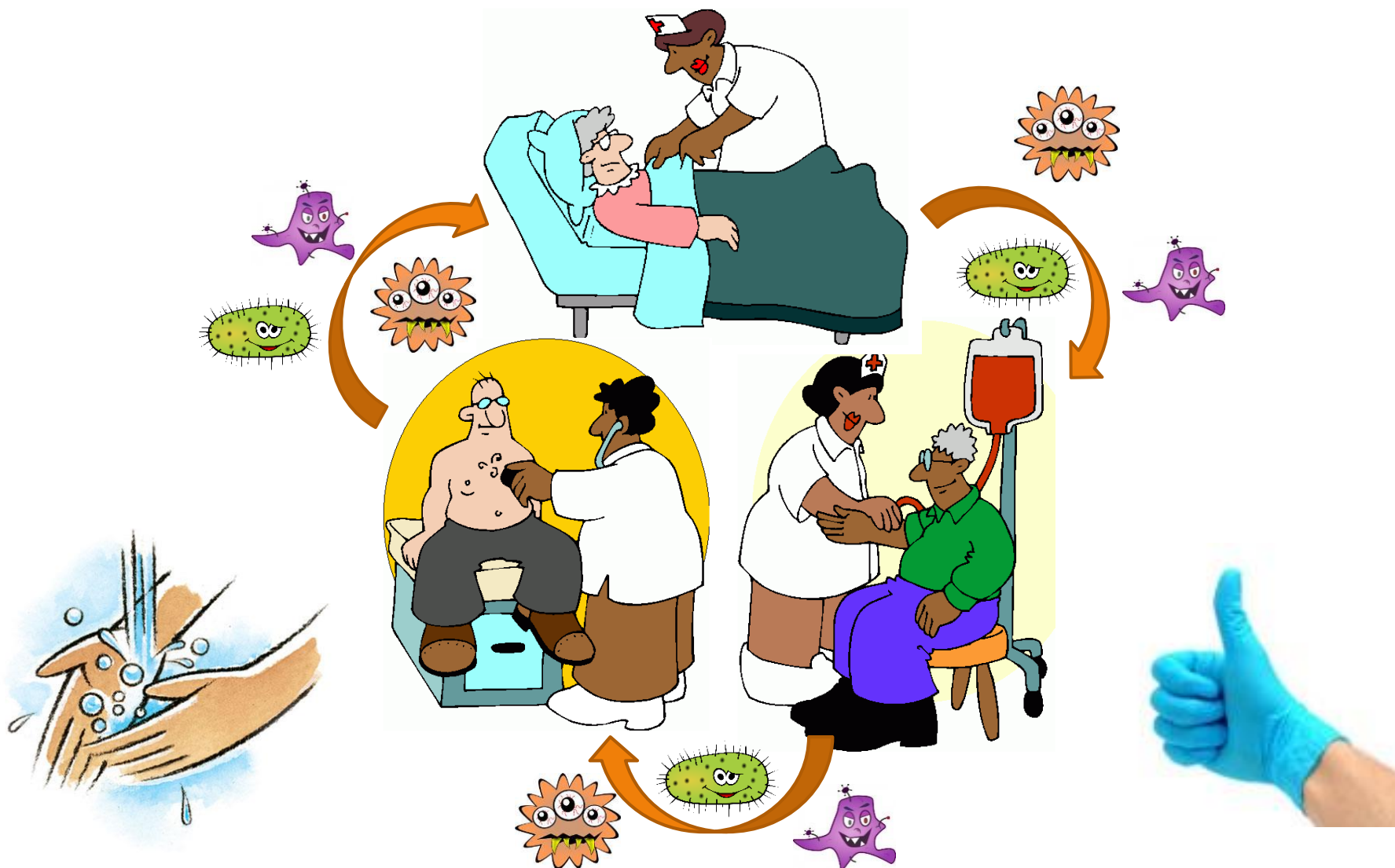
Óbuda University
Pro Scientia et Futuro

1. félév: Kutatási célok, azok jelentősége

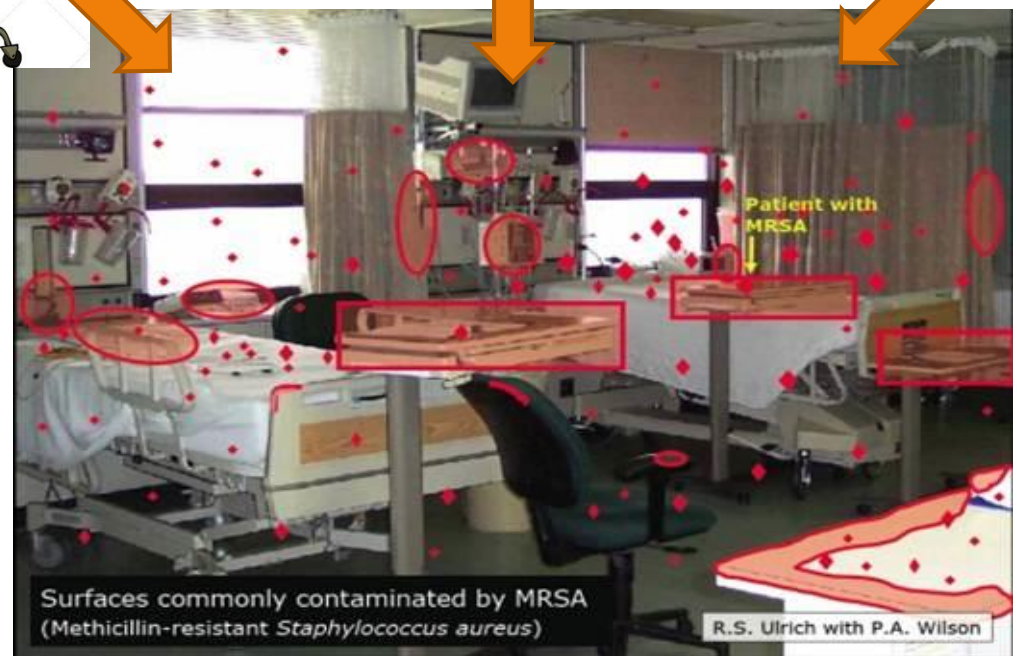
- Antimikrobiális hatóanyagok egészségügyi alkalmazása
 - extrém környezet és a „nehézfiúk” = ellenálló mikróbák
 - megterhelt immunrendszerű emberek
 - nagyszámú egészségügyi ellátással kapcsolatos fertőzés



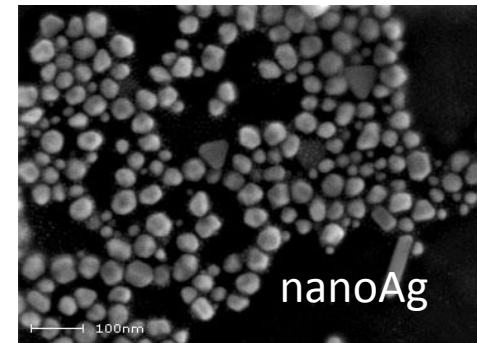
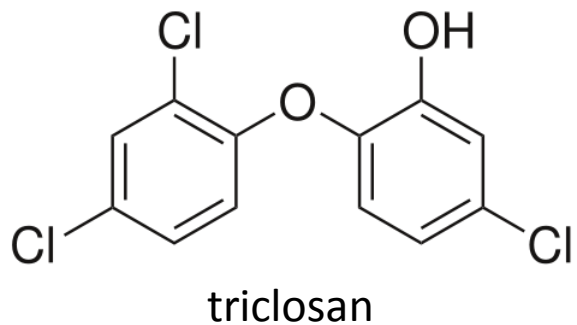
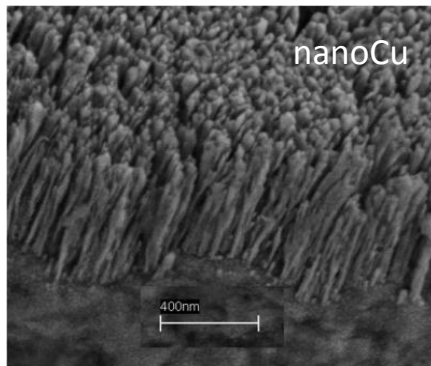
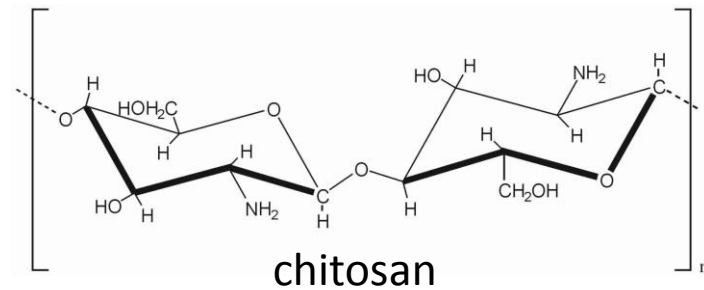
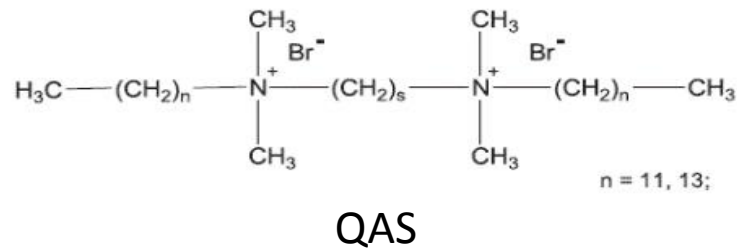
Kórokozó átvitele – direkt mód



Kórokozók átvitele – indirekt mód



Antibakteriális bevonatok



- Hatékonyság ellenőrzése célzottan kiválasztott, jól túlélő, multirezisztens patogénekkal ->



Baktérium törzsek kiválasztása

- Az Országos Epidemiológiai Központ
 - hazai viszonyokat tükröző törzsgyűjtemény
 - nagyszámú baktériumtörzs, sok háttér-információval:
 - genetikai besorolás, minta eredete, rezisztenciaadatok

15-15 törzs:

- multirezisztens *Klebsiella pneumoniae*
- multirezisztens *Acinetobacter baumannii*
- methicillin reziszt. *Staphylococcus aureus*
- vancomycin rezisztens *Enterococcus spp.*

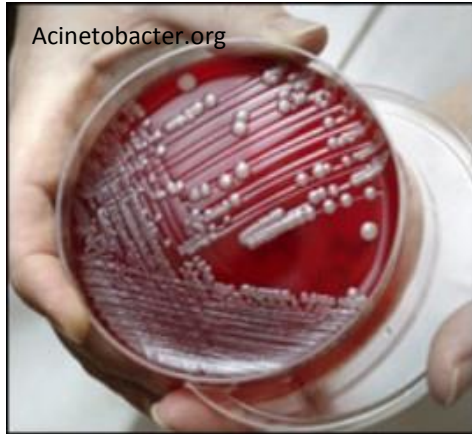
Kutatási munka csoportosítása

1. Kórházi patogének túlélésének vizsgálata bevonat nélküli felületeken.
 - 1.1. Kórtermi körülmények (2-3. félév)
 - 1.2. 100 % pamut törölköző és pamut-poliészter (80-20%) lepedő vizsgálata (4. félévtől)
 - 1.3. Beteg testéhez közeli textília modellezése (4. félévtől)
2. Antibakteriális hatóanyagok vizsgálata
 - 2.1. MIC és MBC mérések táplevesben (3-4. félév)
 - 2.2. Ag-vegyületekhez való szoktatási kísérlet (4. félév)
 - 2.3. Konjugációs kísérlet (4. félév)
3. Antibakteriális hatóanyaggal bevont felületek hatékonyságának vizsgálata. (4. félévtől)

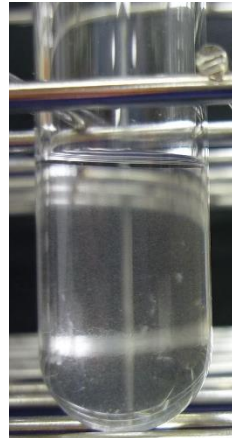
1. Kórházi patogének túlélésének vizsgálata bevonat nélküli felületeken

- 1.1.** Kórtermi körülmények (2-3. félév)
- 1.2.** 100 % pamut törölköző és pamut-poliészter (80-20%) lepedő vizsgálata (4. félévtől)
- 1.3.** Beteg testéhez közeli textília modellezése (4. félévtől)

Kísérleti protokoll



24 h -ás tenyészet

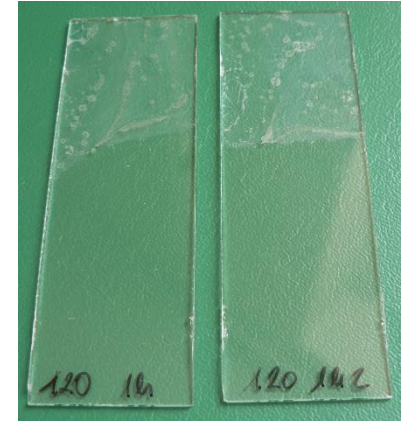
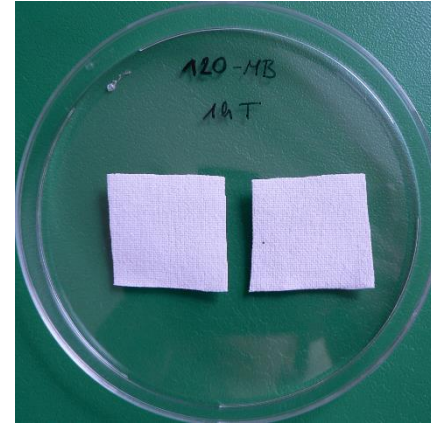


0,5 McF

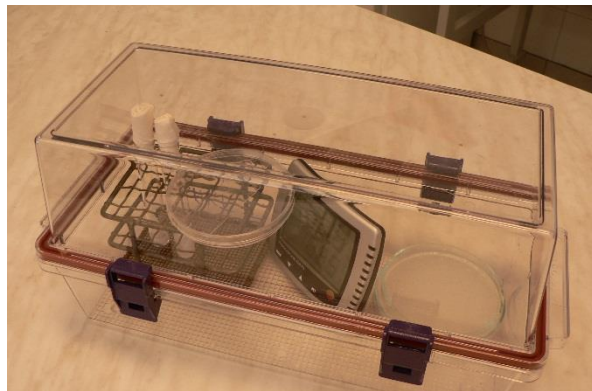
hígítás



20-20 μ l



2,5*2,5 cm felület; $2 \cdot 10^5$ CFU



35 °C; Rh = 82-83 %; KCl

25 °C; Rh = 52,5-53 %; $Mg(NO_3)_2$



hígítási sor, 24h inkubálás, telepszámlálás

1.1. Túlélés kórtermi felületeken (2-3. félév)

- **VRE:** mindkét felületen (üveg – használt 100% pamut lepedő) nagyon jól túlélnek.
- **MRSA:** üvegen szignifikánsan jobban túlélnek ($P=0,008$).
- **MACI:** textilen szignifikánsan jobban túlélnek ($P =0,017$), a gyakori PFGE típusok (AC001, AC011) a legellenállóbbak.
- **MRKP:** legkevésbé ellenálló, de a textilen legjobban túlélők a leggyakoribb hazai (ST15 és ST11), illetve egy nemzetközi típusba (ST258) tartoznak. A törzsek fele karbapenemáz rezisztens is. (járványokozó képesség, kiugró halálozás)

1.1. Túlélés kórtermi felületeken (2-3. félév)

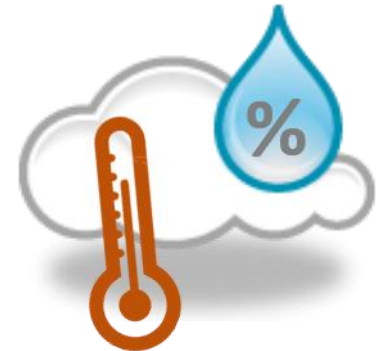
- **Izolálási hely** (abiotikus felszín, emberi test, invazív minta) szerint nem találtunk különbséget a baktériumok között.
- **Leszedhetőség** átlaga a kétféle felületről 47%. Üvegről szignifikánsan jobban visszanyerhetőek ($P = 0,01$).
- A **szárítástűrés** szignifikánsan jobb ($P = 0,01$) a 100% pamuton. Ez a VRE törzseket leszámítva fajonként is jellemző (legalább $P < 0,05$).
- **Biofilmképzés** vizsgálata:
 - Nincs összefüggés a baktériumok megtapadási, illetve túlélési képessége és biofilmképzése között.

1.2. Törölköző, pamut-poliészter lepedő (4. félévtől)

- Törölköző (100% pamut) -> pl.: nagyobb felület
- Pamut-poliészter (80-20%) keverék -> pl.: alacsonyabb nedvszívó képesség
- Eddigi eredmények (a vizsgálat folyamatban van)
 - **VRE, MRSA**: használt lepedőhöz hasonló túlélési képesség
 - **MRKP**: rosszabb túlélőképesség, de OEK-6: törölköző +3 nagyságrend
 - **MACI**: törölközőn 2, poliészter keveréken 4 nagyságrenddel gyengébb túlélés

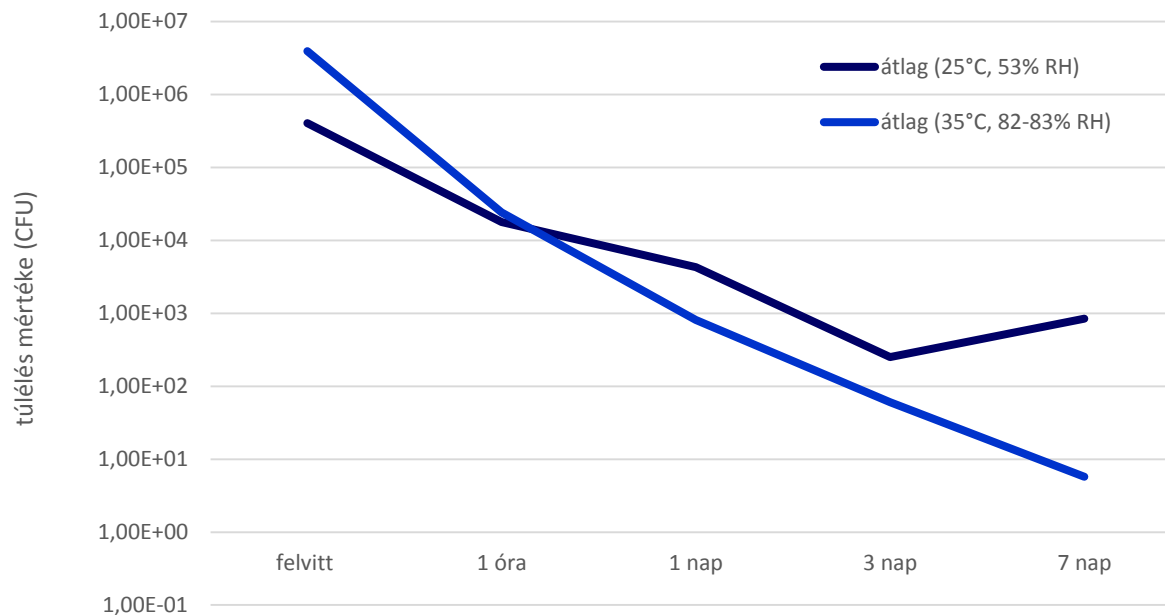
1.3. Beteg testéhez közeli textília modellezése (4. félévtől)

- Páratartalom és hőmérséklet befolyásoló szerepe – szemelvények az irodalomból:
 - A nagyobb nedvességtartalom (80-90%), az alacsonyabb hőmérséklet (4-6°C) elősegíti a kórokozók túlélését.
 - *Staphylococcus aureus* törzsek jobban túlélnek alacsony páratartalom mellett.
 - A közepes (52%-os), máskor az alacsony (10%) páratartalom gátolta leginkább a fennmaradást.
 - Sok publikációban nem szabályozzák precízen a körülményeket. Pl.: 22-38 °C és 39-79% RH



Előkísérlet: 35°C, 82-83% RH (KCI)

- Fajonként 1-1 jól túlélő törzs vizsgálata:



- További tervek: +mesterséges izzadtság (MSZ EN ISO 105-E04 szabvány) -> kétféle „precíz” körülmény

Felületi túlélés - további tervek

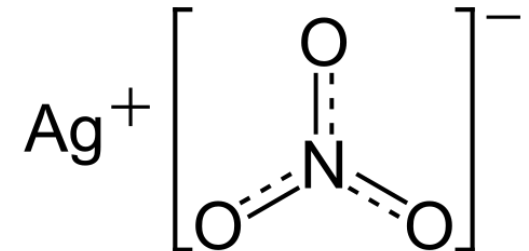
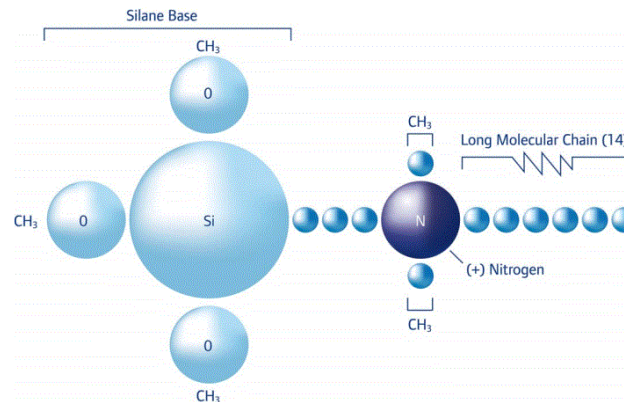
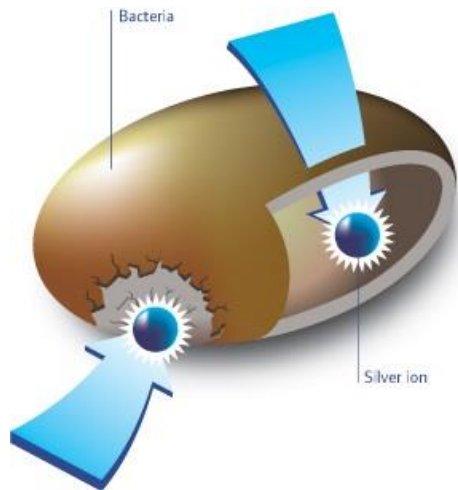
- Válaszkeresés a fajok/felületek közötti különbségekre:
 - Hidrofóbicitás (xilol, n-hexadekán, polisztirol stb.), adszorpciós képesség mérése
- Műanyag felületek vizsgálata:
 - Katéter alapanyagok (FTIR-mérés folyamatban, KFKI)
 - Gumikesztyű (latex/nitril-kaucsuk)
 - PVC/formika

2. Antibakteriális hatóanyagok vizsgálata

- 2.1.** MIC és MBC mérések táplevesben (3-4. félév)
- 2.2.** Ag-vegyületekhez való szoktatási kísérlet (4. félév)
- 2.3.** Konjugációs kísérlet (4. félév)

2.1. MIC és MBC mérése táplevesben (3-4. félév)

- Oldatok:
 - Sanitized T27-22 **Silver** liquid: (2 m/m% AgCl és 8 m/m% TiO₂)
 - Sanitized **T99-19** liquid:
50 m/m% Dimethyltetradecyl(3-(trimethoxysilyl)propyl)ammonium-klorid)
 - 0,1N-os **AgNO₃** oldat (Szkarabeusz vb.)



2.1. MIC és MBC mérése táplevesben (3-4. félév)

baktericid

baktericid

Gram

**+
-**

	mg/L	Silver		AgNO ₃		T99-19	
		MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
MRSA	átlag:	5,5	9,9	5,4	>947,4	6,1	7,0
VRE	átlag:	5,5	10,9	4,9	>298,4	5,5	6,1
MACI	átlag:	10,0	15,1	3,9	4,4	58,6	58,6
MRKP	átlag:	9,9	16,7	4,9	6,6	188,8	240,9

2x – 3x

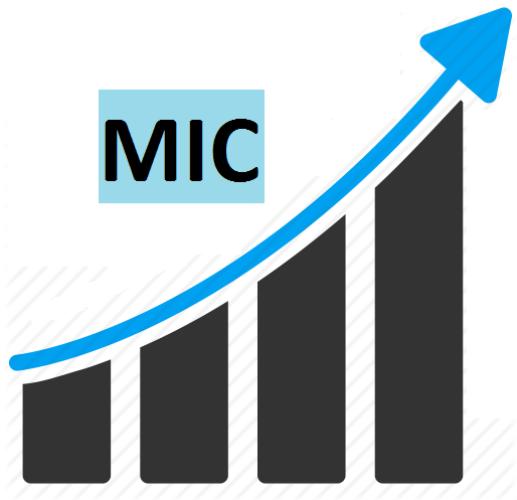
10x – 35x

VRE 1700 mg/L; MRSA 6800 mg/L

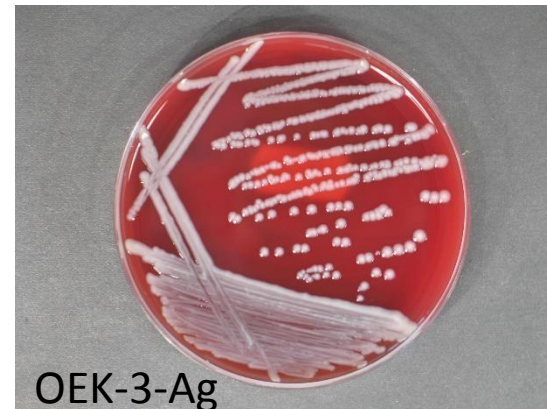
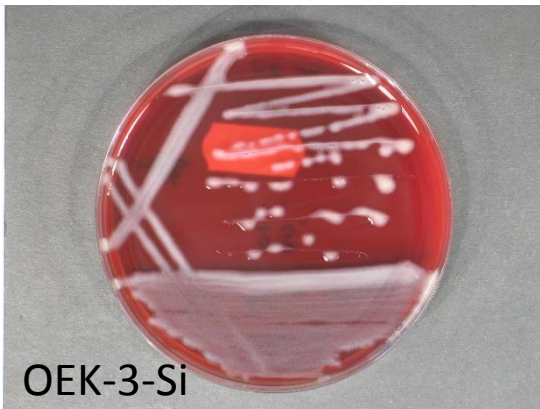
2.2. Szoktatási kísérlet (4. félév)

- Két *Klebsiella pneumoniae* törzs
 - **OEK-3**: ST15-ös nemzetközi szinten elterjedt kórházi klón, Ag-rezisztenciagének a genomban
 - **OEK-4**: ST25 sporadikus klón, nincs Ag-rezisztenciagén
- Módszer:
 - Sanitized T27-22 **Silver** és **AgNO₃** oldat
 - U-aljú Takátsy-lemez, MH-leves, kiindulási koncentráció MIC alatti
 - Kétnaponta a hatóanyag-koncentráció megduplázása
 - 35°C, rázatás

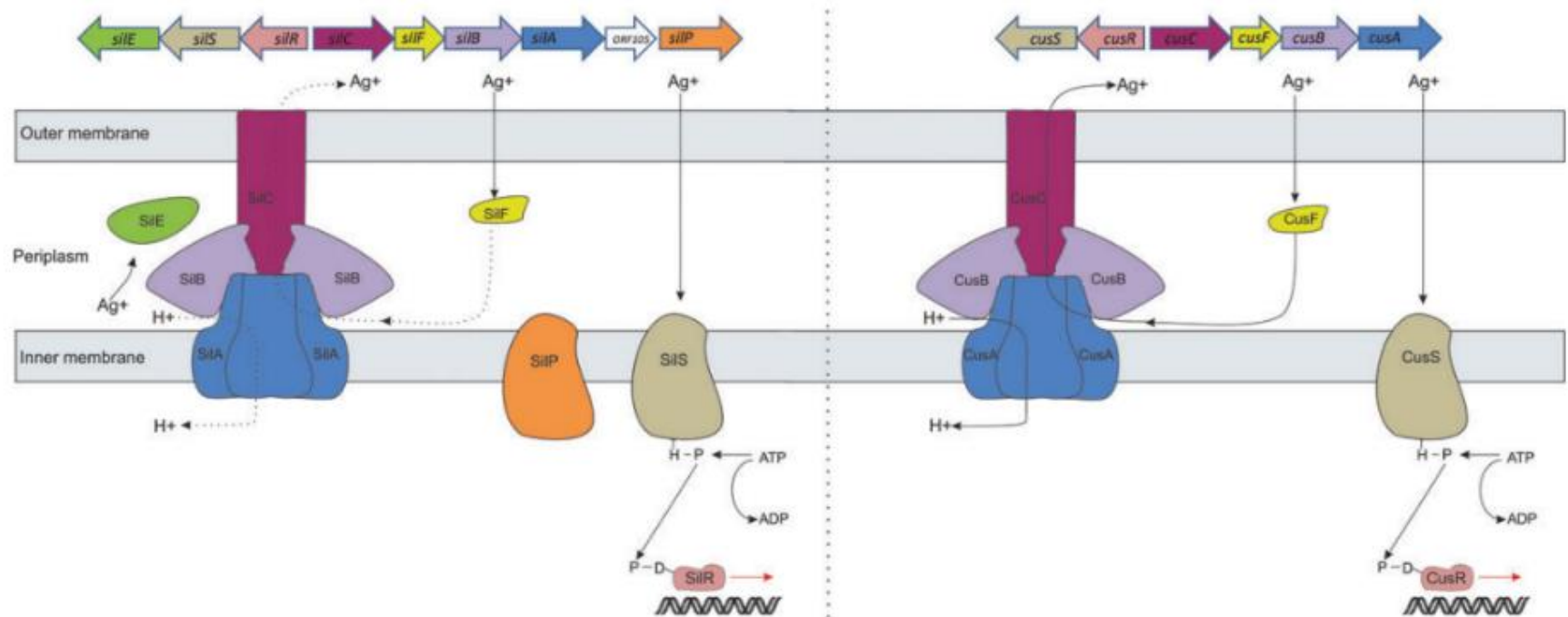
Szoktatási kísérlet eredménye



- OEK-3
 - Silver: 7,81 -> 500 mg/L (56x)
 - AgNO₃: 3,32 -> >8500 mg/L (2560x)
- Antibiotikum rezisztencia megtartása.
- A MIC értékek stabilak
(20 átszélesztés, Ag-hiányos környezet)
- Fenotípus-változás:



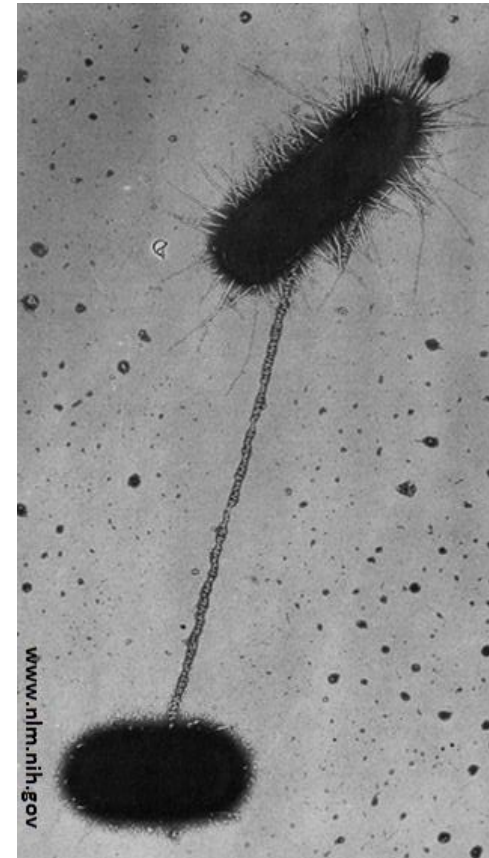
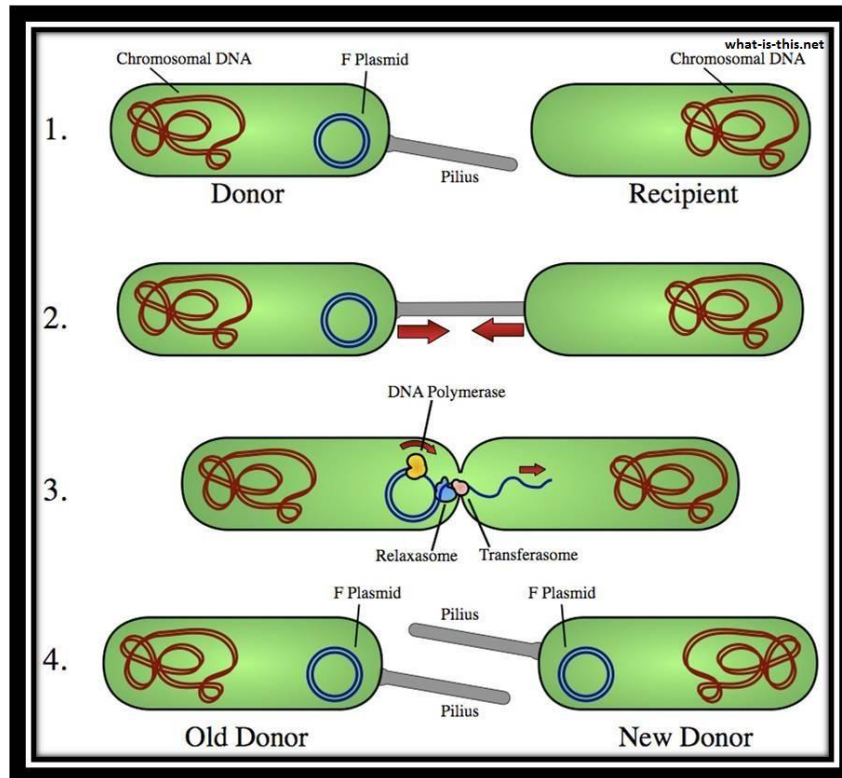
Az Ag-rezisztencia mechanizmusa



kép forrása:

Randall, C.P., et al., *Silver resistance in Gram-negative bacteria: a dissection of endogenous and exogenous mechanisms.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015: p. dku523.

2.3. Konjugációs kísérlet



Első kísérletünk sikertelen volt, újabb próbálkozás pl.: elektroporációval.

3. Antibakteriális hatóanyaggal bevont felületek hatékonyságának vizsgálata.
(4. félévtől)

Lepedő kikészítése

- Lepedő:
 - 100% pamut
 - 104,37 g/m²
 - préshatásfok: 106.26 %
- Oldatok:
 - 5,6 g/L-es (T99-19)
 - 6,585 g/L-es (Silver)
 - Áztatás 1 perc
- Rögzítés: laborhőn szárítás



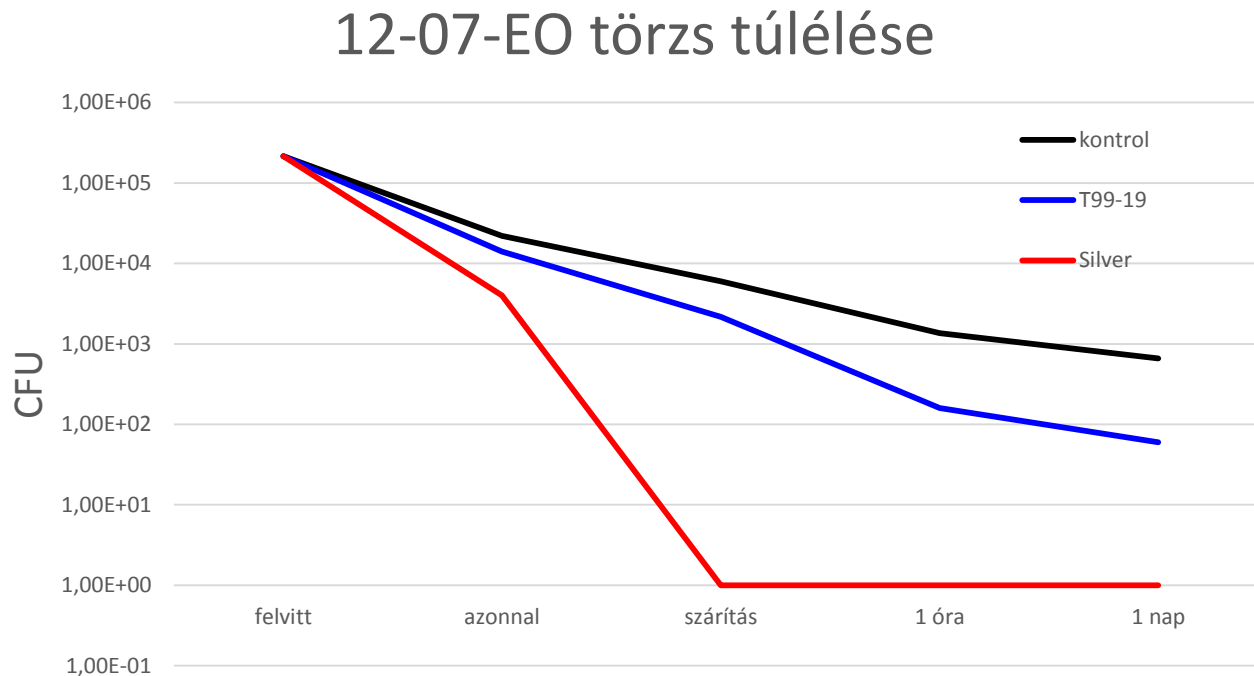
Kézi fulár ☺

- Hálás köszönet Dr. Vígh Andrásnak (BME)

Eredmények

- OEK-3, OEK-3-Si, OEK-3-Ag összehasonlítása:
nem mutat értékelhető különbséget. A baktérium nagyon érzékeny a felületen történő kiszáradásra, így valószínűleg nincs jelentősége az ezüst-rezisztenciának.
- A 60 törzs vizsgálata folyamatban van. Eddigi tapasztalatok:
 - MACI, MRKP: nincs antibakteriális hatás
 - VRE: Silver hatóanyag a szárítás során elpusztította

Sanitized vs. VRE 😊



- További tervek:
 - Mosásállóság tesztelése, protokoll beszerzése folyamatban

Egyéb

- Hallgatott tantárgyak:
 - Cellulóz alapú szálak módosítása (Borsa Judit)
 - Válogatott fejezetek az anyagvizsgálati módszerekből (Takács Erzsébet, Telegdi Judit)
- Publikáció:
 - Ebben a félévben nem készült.



"The patient in the next bed is highly infectious. Thank God for these curtains."

Köszönöm
a figyelmet!

Budapest, 2015.06.25.