

SZAKDOLGOZAT

Korányi Anikó

2025



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök Alapképzési Szak**

**NAGYENERGIÁJÚ IONIZÁLÓ SUGÁRZÁS HATÁSA A
STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS
ANTIBIOTIKUMÉRZÉKENYSÉGÉRE**

Belső konzulens: Dr. habil. Kocsis Tamás
Egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet /
Élelmiszer-mikrobiológia,
-higiénia és -biztonság
Tanszék

Külső konzulens: Dr. Homlok Renáta
Tudományos főmunkatárs

**Külső konzulens
munkahelye:** HUN-REN,
Energiatudományi
Kutatóközpont, Energia- és
Környezetbiztonsági
Intézet, Felületkémiai és
Katalízis Laboratórium,
Sugárkémiai csoport

Készítette: **Korányi Anikó**

Budapest

2025

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzés	1
1.1 Célkitűzés	2
2. Szakirodalmi áttekintés	3
2.1 A tej táplálkozástani jelentősége.....	3
2.2 Fermentációs folyamat ismertetése.....	3
2.2.1 Fermentációval készült tejtermék – A joghurt.....	4
2.3 Tejsavbaktériumok jellemzése.....	5
2.3.1 Probiotikumok szerepe az egészségmegőrzésben	6
2.3.2 Tejsavbaktériumok az emésztőrendszerben.....	7
2.3.3 Tejsavbaktériumok a nők esetében.....	8
2.3.4 <i>Streptococcus thermophilus</i>	9
2.4 Antibiotikumok ismertetése	9
2.4.1 Antibiotikumok története.....	10
2.4.2 Rezisztencia kialakulása és veszélyei	10
2.4.3 Ciprofloxacín hatásmechanizmusa.....	11
2.4.4 Trimetoprim-Sulfametoxazole hatásmechanizmusa	11
2.5 Tejsavbaktériumok és antibiotikumok előfordulása szennyvízben	12
2.6 γ -sugárzás bemutatása.....	13
2.6.1 Szennyvíztisztítás γ -sugárzással	14
2.7 MALDI-TOF MS technika bemutatása	15
3. Alkalmazott anyagok és módszerek	17
3.1 A kísérletben használt tejsavbaktériumok bemutatása.....	17
3.2 Tenyésztéshez alkalmazott anyagok és módszerek	17
3.2.1 A vizsgálatban használt táptalaj bemutatása.....	17
3.2.2 Tejsavbaktérium izolátumok felélesztése	18
3.2.3 Tenyésztés.....	18
3.3 Agardiffúziós teszt.....	18
3.4 MIC érték meghatározása.....	19
3.5 Besugárzandó minták előkészítése	20
3.6 Besugárzás.....	22
3.7 Besugárzott minták tenyésztése.....	22
3.8 Besugárzott törzsek vizsgálata MALDI-TOF MS segítségével	23
4. Eredmények és értékelésük	25
4.1 A kísérletben vizsgált törzsek antibiotikumérzékenységének eredményei	25
4.2 MIC érték meghatározás eredményei	26

4.3	Besugárzott törzsek – agardiffúziós teszt eredmények	27
4.4	Besugárzott törzsek tömegspektrumainak klaszteranalízise	32
5.	Következtetés és javaslatok	35
6.	Összefoglalás	36
7.	Irodalomjegyzék	38
8.	Ábrák és táblázatok jegyzéke	42
9.	Mellékletek.....	44
10.	Hallgatói nyilatkozat.....	45
11.	Konzulensi nyilatkozat	46
12.	Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata a mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról.....	48

1. Bevezetés és célkitűzés

A tejsavbaktériumok széles körben előforduló mikroorganizmusok, melyek mindenhol megtalálhatóak a természetben. Több élelmiszer kategória nélkülözhetetlen összetevője, egyes élelmiszerek fermentációja nem is valósulhatna meg nélkülük. Tejsavbaktériumok hiányában az élet is elképzelhetetlen lenne, mivel kulcsfontosságú szerepet játszanak az immunrendszer védelmében. Testünk több területén is jelen vannak, különösen az emésztőrendszerben, ahol segítik a bélrendszer egészségének fenntartását, annak zavartalan működését, ezáltal az immunrendszer erősítését. Nőknél a hüvelyflóra nélkülözhetetlen alkotóeleme, segítenek az egészséges pH-érték megtartásában és védelmet nyújtanak a kórokozó mikroorganizmusok ellen. A természetben is széles körben előfordulnak, például növényeken és a talajban.

Az antibiotikumok olyan gyógyszerek, amelyek felveszik a harcot a szervezetben előforduló bakteriális fertőzésekkel szemben. Különböző hatásmechanizmussal rendelkeznek, ezért nem egységes a működésük, meghatározott, hogy melyik antibiotikum milyen baktérium csoport ellen hatásos. A betegség visszaszorításában a baktérium sejtek szaporodásának gátlásával, valamint a sejtek elpusztításával képesek hozzájárulni.

A szennyvíz hozzátartozik mindennapi életünkhöz, termelődése emberi behatás miatt következik be. A háztartásokból származó szennyvíz alapvető szükségleteinkhez párosul, erre lehet példa a fürdés, fogmosás, illemhely öblítése, de ide tartozik a mosogatás, mosás és a takarítás is. Emellett ipari szennyvíz is jelentős mennyiségben termelődik nap mint nap, melynek kezelése még nagyobb odafigyelést követel meg.

A szennyvíztisztítás fontos témának számít mind környezetvédelmi, mind egészségügyi szempontból. Megfelelő kezelésével megakadályozhatók betegségek terjedése, az ökoszisztéma megvédése, valamint a megtisztított víz újra felhasználhatóvá válik. Új szennyvíztisztítási technológiák kutatása és fejlesztése mind a napig folyamatban van, melyek közül az egyik ígéretes megoldás a nagyenergiájú ionizáló sugárzás alkalmazása, a szennyvízben előforduló szermaradványok és mikroorganizmusok semlegesítésére.

1.1 Célkitűzés

Dolgozatom célja, hogy összehasonlítsam joghurtokból izolált tejsavbaktériumok különböző antibiotikumokkal szemben kialakított rezisztenciáját, valamint, hogy megvizsgáljam a rezisztencia változását nagyenergiájú γ -sugárzásnak való kitettséget követően. Kutatásom során azt vizsgálom, hogy a γ -sugárzás milyen módon befolyásolja a tejsavbaktériumok antibiotikum-érzékenységét, illetve, hogy a hatás növeli vagy csökkenti az érzékenység mértékét. Ezen eredmények hozzájárulhatnak a γ -sugárzással történő szennyvíztisztítás lehetséges hatásainak jobb megértéséhez, valamint egy új kutatási irány feltárásához ezen a területen.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1 A tej táplálkozási jelentősége

A tej az emlősök tejmirigyekből származó váladék, amely újszülöttek elsődleges táplálékául szolgál. Tartalmazza mindazon tápanyagokat, amelyre a fejlődésükhöz szükségük van, ugyanakkor olyan komponenseket is, amelyek hozzájárulnak az immunrendszer védelméhez. Ilyenek például az immunglobulinok, enzimek, fémkötő fehérjék és oligoszacharidok. Bár a tej alapvető hasonlóságot mutat az összes emlősfaj esetében, mégis vannak olyan specifikus eltérések, amik csak az adott fajra jellemzőek. A tej vizes oldat, más néven tejszérum, amely laktózt, azaz tejcukrot, szerves- és szervetlen sókat, valamint számos nyomelemet tartalmaz. A benne található kolloid részecskék méretüket tekintve három tartományba sorolhatók: tejsavófehérjék, amelyek molekuláris szinten oldott formában vannak jelen, kazein micellák, amelyek 50-500 nm átmérőjű diszpergált részecskék, és lipidek, amelyek nagyobb méretű 1-20 µm közötti átmérőjű zsírgömbökként emulgeálódnak (O'Mahony és Fox, 2014).

Az emberiség évezredek óta hasznosítja más élőlények tejét. Emberi fogyasztásra legelterjedtebben a szarvasmarha, juh, bivaly és a kecske tejét dolgozzák fel, melyekre jelentős iparágak fejlődtek ki. A tej sokoldalú, széles körben felhasználható alapanyagának számít. A tejben található kazein rendkívül fontos táplálkozási és technológiai szempontból. A micellák destabilizációja után korlátozott proteolízis, vagy savanyítás (~pH 4,6) következtében aggregálódnak, vagy gélt képeznek. E tulajdonság technológiai szempontból jól hasznosítható az erjesztett tejtermékek gyártásában (O'Mahony és Fox, 2014).

Hazánkban kizárólag a tehéntejből készült termékek esetén nem szükséges feltüntetni az állatfajt. Ha a tehéntejre szeretnénk utalni, elegendő a „tej” szót alkalmazni, minden más esetben szükséges az állat megnevezése (152/2009. (XI. 12.) FVM rendelet A Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről).

2.2 Fermentációs folyamat ismertetése

A fermentáció egy olyan enzimatikusan katalizált biológiai folyamat, amely során különböző mikroorganizmusok (elsősorban baktériumok vagy gombák) a számukra hasznosítható anyagokat, például a szénhidrátokat, lebontják és azokból különféle végtermékeket hoznak létre. Biotechnológiai szempontból a klasszikus fermentáció a fehér biotechnológiába tartozik (Lorenz és Zinke, 2005). Biotechnológiai szempontból a fermentáció a biokémiai és mikrobiológiai mérnökség alapvető részterülete, és fontos szerepet tölt be az élelmiszer-,

takarmány-, vegy- és gyógyszeriparban egyaránt. A fermentáció összetett, többtényezős folyamat, végbemenetele többek között függ az alkalmazott mikroorganizmustól, a tápközeg összetételétől, és a környezet paramétereitől (például hőmérséklet, pH, oxigénellátottság). Az élelmiszeriparban elsősorban az anaerob, azaz oxigén jelenléte nélkül végbemenő fermentáció a meghatározó, amely lehet alkoholos, tejsavas, vagy ezek kombinációja (Trchounian és Trchounian, 2019). Tejsavas fermentációnál a tejsav baktériumok a szénhidrátot, elsősorban a laktózt, tejsavvá alakítják. Számos termék készíthető tejsavas erjesztéssel, a tejtermékek, az erjesztett zöldségek, a fermentált húskészítmények, de a savanyú kovással készült kenyér is ezen az eljárás alapján alapulnak. Érzékszervi tulajdonságokra gyakorolt hatása is fontos, segít az íz és állag kialakításában (Khubber és munkatársai, 2022).

Biokémiai szempontból a fermentáció oxidációs-redukciós folyamat, amely során a szerves vegyületek oxidációja elektronleadással jár, és ennek révén energia szabadul fel. Az élelmiszerek fermentációjánál az oxidáló ágens nem oxigén, így anaerob respirációról beszélünk. A szénhidrátok lebontásánál a glikolízis során piruvát képződik, amely a tejsavas erjedés során tejsavat képez. Ennél a típusú fermentációnál az erjedés lehet homo- (csak tejsav keletkezik), illetve heterofermentatív (tejsav mellett egyéb melléktermékek, például ecetsav, etanol, vagy CO₂ is képződik) folyamat (Wang és munkatársai, 2021).

2.2.1 Fermentációval készült tejtermék – A joghurt

A joghurt a tej fermentált formája, amelyet tejsavbaktériumokkal, úgynevezett joghurt kultúrával való beoltással állítanak elő. Alapállapotban sűrű állagú, fehér színű tejtermék, jellegzetes savanykás ízzel és illattal.

A joghurt az emberi étrend részét képezi évezredek óta. Az elnevezés a török eredetű „yoğurt” szóból ered, melynek jelentése sűrítés vagy kicsapódás. Már Krisztus előtt is találtak feljegyzéseket a joghurt egészségmegőrző tulajdonságairól, azonban csak a 20. században ismerték fel tudományosan a tejsavbaktériumok jótékony hatását. (Fisberg és Machado, 2015)

A joghurt napjaink egyik legnépszerűbb tejterméke, melyet felfedezése óta számos kutatásnak vetettek alá állaga, íze, és egészségre gyakorolt hatásainak megismerése céljából. Népszerűségét annak is köszönheti, hogy megannyi egészségmegőrző, vagy javító tulajdonsággal rendelkezik, hiszen a benne található probiotikus baktériumok hozzájárulnak a bélrendszer normál működéséhez, ezáltal elősegítik az immunrendszer működését. A

folyamatos termékfejlesztések és ízvariációk révén a joghurt iránti fogyasztói érdeklődés a mai napig megmaradt (Siddique és munkatársai, 2025). Kereskedelmi forgalomban ma már számos különböző típusú, ízű és állagú termék érhető el, amelyek széles választási lehetőséget kínálnak a fogyasztók számára.

A tej fermentációját a tejsavbaktériumok katalizálják. A joghurt előállításában általában a *Streptococcus thermophilus*, vagy a *Lactobacillus bulgaricus* vesz részt. Az erjedési folyamat a tejsavbaktérium aktivitásán alapszik, fontos szerepet játszik a nyersanyag, azaz a tej terméké alakításában. Mielőtt a starterkultúra felhasználásra kerül, izolálási, szelekciós és megerősítő folyamatokon mennek keresztül. Legfontosabb tulajdonságuk, hogy képesek a tejet megsavanyítani, emellett az íz és az állag kialakítását is befolyásolják proteolitikus aktivitásuk végett (Widyastuti, Rohmatussolihat és Febrisiantosa, 2014).

2.3 Tejsavbaktériumok jellemzése

A tejsavbaktériumok Gram-pozitív baktériumok, amelyek morfológiájuk alapján lehetnek gömb (coccus), vagy pálcika (bacillus) alakúak. Kataláz-negatív sajátossággal rendelkeznek. Savtermelő-, illetve savtűrő képességűek, hiányzik belőlük a citromsav ciklus, csak erjesztésre képesek. Tápanyagszükségletük összetettnek tekinthető, mivel növekedésükhöz szükségük van vitaminokra, aminosavakra és zsírsavakra. Élőhelyük változatos, megtalálhatók az emberi és állati szervezetben, különösen a bélrendszerben, a hüvelyflórában, a légzőrendszerben és a szájüregben, továbbá számos élelmiszerben és természetes közegben, például tejtermékekben, fermentált húskészítményekben, zöldségekben, gyümölcsökön, valamint szennyvizekben is (König és Fröhlich, 2017). A tejsavbaktériumok acidofil, azaz savas környezetet kedvelő baktériumok, optimális pH tartományuk 4,8-5,5 közé esik. Többségük mezofil mikroorganizmus, a számukra legoptimálisabb hőmérséklet tartomány 30-40 °C közé esik. Oxigénigényüket tekintve aerotoleráns anaerob baktériumok, ami azt jelenti, hogy az oxigén jelenlétében és annak hiányában egyaránt képesek fermentációt végezni, noha az energiatermelésük nem függ az oxigéntől. Ezen baktériumok kétféle erjesztési típusba sorolhatóak, vagy homo-, vagy heterofermentatív. Homofermentatív fajok a cukrokat szinte kizárólag tejsavvá alakítják, míg heterofermentatív fajok tejsav mellett etanolt, ecetsavat és széndioxidot is termelnek (König és Berkemann-Löhnertz, 2017).

A tejsavbaktériumok kutatása a 19. században kezdődött. Louis Pasteur tejsavas erjedés vizsgálatait követően 10 évvel később, 1873-ban Joseph Lister állította elő tejsavbaktériumból az első tiszta tenyészetet. A tejtermékek előállítására használat starterkultúrákat 1890-ben

vezették be (König és Fröhlich, 2017). A kultúra, vagy más néven szintenyészet olyan, az emberi egészségre ártalmatlan mikrobatenyészet, amelyet bizonyos tejtermékek gyártásánál alkalmaznak (152/2009. (XI. 12.) FVM rendelet A Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről).

A tejsavbaktériumok összetett tápanyagigényük miatt elsősorban tápanyagban gazdag környezetben fordulnak elő. Szinte az összes tejsavbaktérium apatogén, biztonságos az emberi szervezet számára (König és Fröhlich, 2017). A tej, valamint a fermentált tejtermékek kitűnő táptalajt jelentenek a romlást okozó mikroorganizmusok számára, azonban a tejsavbaktériumok antimikrobiális tulajdonságaik révén természetes módon gátolják ezek elszaporodását. Savat képeznek, amely antimikrobiális hatású, emellett képesek felszabadítani antimikrobiális metabolitokat, úgynevezett bakteriocineket. Mindkét anyag természetes tartósítószernek tekinthető (Zacharof és Lovitt, 2012). A bakteriocinek nagy molekulású polipeptidek, melyek képesek a Gram-pozitív baktériumok, a spórás baktériumok és a patogén mikroorganizmusok gátlására.

2.3.1 Probiotikumok szerepe az egészségmegőrzésben

A probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelően adagolva a gazdaszervezet számára egészségügyi előnyökkel járnak. A „probiotikum” elnevezés a görög *pro bois* kifejezésből származik, jelentése az „életért”. A probiotikus készítményekben leggyakrabban alkalmazott baktériumnemzetségek a *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus* és az *Escherichia* (Gupta és Garg, 2009).

A probiotikumok egészségre gyakorolt jótékony hatását már az ókorban is ismerték. Az étrend és az egészség kapcsolatát már Hippokratész is hangsúlyozta („Legyen ételed az orvosságod”), bár a probiotikumok szerepét ekkor még nem ismerték. A savanyú tej fogyasztását emésztőrendszeri panaszok enyhítésére javasolták, ami a későbbi tudományos felismerések előfutárának tekinthető. Az első tudományos magyarázat 1908-ból származik, és egy orosz tudós, Eli Metchnikoff nevéhez köthető. Felállította az öregedésmentes hosszú élet elméletét, melynek alapja az, hogy a tejsavbaktériumok a bélben jelen lévő toxinokat termelő káros mikroorganizmusokat képesek kiszorítani, ezáltal hozzájárulnak a szervezet egészségének megőrzéséhez és az öregedési folyamatok lassításához. Kutatása azt is alátámasztotta, hogy a tejsavbaktériumoknak köszönhetően a savanyú tej megakadályozza a vastagbélben található anaerob és spóráképző baktériumok növekedését, illetve toxicitását (Ayivi és munkatársai, 2020).

Valójában mit is csinálnak a probiotikumok? Fogyasztásuk célja az egészséges bélműködés fokozása és fenntartása. Hatásmechanizmusai között megtalálható a bélbarrier erősítése, immunválaszok modulálása, kórokozó mikroorganizmusok gátlása, vagy antimikrobiális szerek termelése és vitaminok biztosítása. Ahhoz, hogy zavartalanul eljussanak a célszervbe, megfelelő ellenállóképeséggel kell rendelkezniük. A probiotikus törzsek túlélnek a gyomron való áthaladást acetofil jellegüknek köszönhetően, alkalmazkodnak a gazdaszervezet bélrendszeréhez, ebbe beleértendő az aktív és szinergikus anyagcserék, a stresszreakciók és a bélnyálkahártyához való tapadás. Képesek metabolizálni a gazdaszervezetből és az elfogyasztott ételekből származó komplex cukrokat. Bakteriocin termelésük hozzájárul ahhoz, hogy versenyképesek maradjanak a bélrendszerben. Az iparban jó technológiai tulajdonságaik miatt is kulcsfontosságúak termelés és tárolás szempontjából. A probiotikumok leggyakrabban joghurt, vagy annak ital formájában jutnak az emberi szervezetbe (Siezen és Wilson, 2009).

A probiotikumokat terápiás felhasználásra is használják. Egyes klinikai alkalmazásai az urogenitális betegségek kezelése, székrekedés, vagy épp hasmenés enyhítése, hiperkoleszterinéma csökkentése, csontritkulás vagy ételallergia megelőzése, valamint a vastagbélrák és hólyagrak elleni védelem. Emellett az immunrendszer szabályozásában is fontos szerepet töltenek be, növelve a szervezet fertőzésekkel és daganatos betegségekkel szembeni ellenálló képességét (Ayivi és munkatársai, 2020).

2.3.2 Tejsavbaktériumok az emésztőrendszerben

Az emésztőszervrendszer rengeteg mikrobiális, legnagyobb mennyiségben baktériumok otthona, ezek összességét nevezzük bélmikrobiotának. A tejsavbaktériumok természetes módon is megtalálhatóak az emberi testben, különös tekintettel a gasztrointesztinális traktusban, ezáltal tagjaik a bélmikrobiotának. A gasztrointesztinális rendszer különböző szakaszai eltérő fizikai vagy kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, így a baktériumok koncentrációja is eltérő. Bár a tejsavbaktériumok a szájüregben, a gyomorban és a vékonybélben is megtalálhatóak, legnagyobb számban a vastagbélben élnek. A tápanyagok hasznosulása a gyomor és a vékonybél első kétharmadánál lenne a legnagyobb, azonban a gyomor pH-ja, az epesavak toxicitása és az emésztőszervrendszer gyors áramlása nem teremt számukra megfelelő életkörülményt, a gyomortól lefelé távolodva koncentrációjuk egyre nő, a vastagbélben pedig eléri a legmagasabb koncentrációt (Walter, 2008).

Az emberi bélrendszer a születés pillanatában steril, ezután rövid időn belül számos mikrobiális törzs vagy faj kerül a bőrfelszínre, és a tápcsatornába. Természetes szülés esetén a csecsemő

mikrobiotája jellemzően az anya hüvelyi és székletmikrobiotájából származik, míg császármetszés esetén inkább a környezeti mikrobák dominálnak. Kezdetben a bélben lévő baktériumok között nagy számban megtalálható például az *Escherichia coli* és *Streptococcus* törzsek (Sousa és munkatársai, 2008).

A tejsavbaktériumok jelenléte elengedhetetlen az egészséges emésztőrendszer fennmaradásához. Fokozzák az anyagcserét és az emésztést, valamint erősítik az immunrendszert. Megfelelően alkalmazkodtak a bélrendszerhez, főként három szempont alapján, ide tartozik a bélszövetekhez való tapadás, a bélben történő szubsztrát fermentáció, és a gazdaszervezetben fellépő akadályokkal szembeni rezisztencia. A tejsavbaktériumok bélszövetekhez való tapadását elősegíti a perisztaltika, melyhez társulnak a bél hámsejtjeit bélelő és védő mucinok (Ayivi és munkatársai, 2020).

2.3.3 Tejsavbaktériumok a nők esetében

A tejsavbaktériumok rendkívül fontos szerepet töltenek be a női egészség fenntartásában. A termékeny korban lévő nők egészséges hüvelyflóráját különböző mikroorganizmusok alkotják, melynek túlnyomó része tejsavbaktérium. Széles körben elfogadott, hogy a tejsavbaktériumok tejsavtermelése, valamint egyéb mechanizmusai révén elősegítik a hüvely egészségének fenntartását. A hüvely pH-értékét lecsökkentik 4-5 közötti értékre, mely gátolja a káros baktériumok szaporodását. Ha a tejsavbaktériumok száma lecsökken, más baktérium taxonok pedig túlszaporodnak, az bakteriális vaginózishoz, vagy aerob vaginitiszhez vezet, amelyek kellemetlen fizikai tünetekkel jelentkeznek, de várandós nőknél a koraszülés kockázatát is megnövelik. Egy tanulmányban 46 nő hüvelyi bakteriális közösségeinek vizsgálatával megállapították, hogy legnagyobb százalékban a *Lactobacillus* bizonyult dominánsnak, ezt követte a *Gardnerella*, a *Streptococcus*, és végül az *Enterococcus* (Witkin és munkatársai, 2013).

Más emlősökkel szemben a nők hüvelyében nagy mennyiségben van jelen a tejsav reprodukív éveikben. Valószínűleg az emberi életmód, valamint a várandós nők és magzatuk endogén és exogén károsodásokkal szembeni védelem érdekében alakult ki (Witkin, 2018). Jótékony hatásai közé tartozik, hogy antimikrobiális és elősegíti az immunmoduláló aktivitást, ezáltal a hámsejtek működését optimalizálja, túlélésüket maximalizálja. Ezen tulajdonságok fokozzák a hüvely ellenállóképességét fertőzésekkel szemben, megnövelik a termékenységi potenciált, és elősegítik a koraszülés megakadályozását. Ugyanakkor bizonyos esetekben kedvezőtlen hatása is előfordul. Egyes tanulmányok szerint, a tejsav elősegítheti a rosszindulatú transzformált

sejtek életben maradását. Termelődésük két módon lehetséges, vagy tejsavbaktériumok, vagy a hüvelyi hámsejtek által, azonban a mennyiség túlnyomó részét a baktériumok biztosítják (Witkin, 2018).

2.3.4 *Streptococcus thermophilus*

A *Streptococcus thermophilus* az egyik legfontosabb tejsavbaktériumnak számít ipari felhasználás szempontjából, széles körben használatos tejtermékek előállításában. Egyik fő funkciója a fermentált tejtermékek előállításában a tej gyors savanyítása. Számos technológiai előnyökkel is rendelkezik, ide tartozik a cukoranyagcsere, a proteolitikus aktivitás, a galaktóz hasznosítása és az ureáz aktivitás. Funkcionális tulajdonságokkal is rendelkezik, ilyenek az extracelluláris poliszacharid, a bakteriocin, a bioszurfaktáns és vitamintermelés. Habár a *Streptococcus* nemzetség része, amely számos patogén fajt foglal magába, a *S. thermophilus* „általánosan biztonságosnak elismert” státusszal van ellátva (Iyer és munkatársai, 2010).

A *Streptococcus thermophilus* egy aerotoleráns anaerob tejsavbaktérium, melyet régóta alkalmaznak fermentált tejtermékek előállításánál, különösen joghurtok esetében. Starterkultúráként a laktózt képes gyorsan tejsavvá alakítani, ennek következtében a pH gyorsan lecsökken, ez pedig a kazein, azaz a tejfehérje koagulációjához vezet. Számos érzékszervi és fizikai tulajdonságra is kedvezően hat, befolyásolja az ízt, a savasságot, a vízmegtartó képességet és a viszkozitást (Linares és munkatársai, 2016).

Probiotikumként funkcionálnak, kedvezően hatnak az emésztőszervrendszer egészségének fenntartására, laktóz intoleranciában szenvedők esetében javítják a laktóz emészthetőségét, elősegítik a működését és a megfelelő emésztést. Megelőzően hatnak hasmenéses és gyulladásos bélbetegségekkel szemben, mindemellett fokozzák a bél immunrendszerét (Linares és munkatársai, 2016).

2.4 Antibiotikumok ismertetése

Az antibiotikumok olyan többnyire természetes eredetű vegyületek, amelyek antibakteriális hatásúak. Ezeket a vegyületeket a természetben baktériumok vagy gombák termelik, kis koncentrációban is hatásosak, mindeközben toxicitásuk általában szelektív. A különböző antibiotikumok eltérő kémiai szerkezettel, hatásmechanizmussal és támadásponttal rendelkeznek. Hatásuk alapján megkülönböztetünk bakteriosztatikus (baktérium szaporodását gátló) és bakteriocid (baktériumölő) antibiotikumokat. Hatásspektrumuk alapján két típust különböztetünk meg. A szűk hatásspektrumú antibiotikumok csak bizonyos

baktériumcsoportokra hatnak, míg a széles spektrumúak számos, egymástól rendszertanilag távol álló baktériumfajjal szemben is hatásosak (Chandra és Kumar, 2017).

Az antibiotikumok különböző hatásmechanizmusokkal fejthetik ki antimikrobiális aktivitásukat. Ezen mechanizmusok közé tartozik, a sejtfalszintézist gátlása, a DNS-replikáció vagy az RNS polimeráz működésének blokkolása, a fehérjeszintézis gátlása, a sejtmembrán permeabilitásának megváltoztatása, valamint a sejtek energia-anyagcseréjének befolyásolása. (Chandra és Kumar, 2017)

2.4.1 Antibiotikumok története

Az antibiotikumok klinikai bevezetése kétségkívül a legnagyobb orvostudományi áttörésnek számított a 20. században. Nemcsak a fertőző betegségek hatékony kezelését tették lehetővé, hanem megalapozták számos modern orvosi eljárás, például a rákkezelés, a nyitott szívűműtét és a szervátültetés biztonságos kivitelezését is. Az antibiotikum képződést mikrobák között már a penicillin felfedezése előtt is leírták, köztük Louis Pasteur is, aki feltételezte, hogy különböző mikroorganizmusok képesek olyan anyagok kiválasztására, amelyek elpusztítanak más baktériumokat (Hutchings és munkatársai, 2019). Az első antibiotikumot Sir Alexander Fleming fedezte fel 1928-ban egy véletlen következtében. *Staphylococcus aureus* szabadon hagyott tenyészetében fertőződött penészgombával, melynek következtében gátlási zóna alakult ki körülötte. 1942-ben kezdték el a penicillin terápiás alkalmazását. (Kerek és munkatársai, 2023)

2.4.2 Rezisztencia kialakulása és veszélyei

Az antibiotikum rezisztencia világszerte súlyos problémát jelent, mivel egyre több bakteriális kórokozó válik ellenállóvá a korábban hatékony szerekkel szemben. Ez magas morbiditással és mortalitással jár, különösen a multidrog-rezisztens (MDR) Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok esetében, amelyek már hagyományos antimikrobiális szerekkel szemben sem kezelhetők. Az egészségügyi intézményekben gyakran alkalmaznak széles hatásspektrumú antibiotikumokat sokszor indokolatlanul, amely hozzájárul a rezisztencia kialakulásához. A bakteriális kórokozók között egyre gyorsabban terjednek a multirezisztens törzsek, ami a kezelés hatékonyságát világszerte veszélyezteti (Frieri és munkatársai, 2017).

Az antibiotikum rezisztencia kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok lehetnek az enzimikus úton történő hatóanyag lebontása vagy kémiai módosítása, a hatóanyag sejtől történő kipumpálása efflux pumpák által, az antibiotikum célpont cseréje vagy védelme, a

permeabilitás csökkentése antibiotikummal szemben, és a hiányból eredő rezisztencia (Kerek és munkatársai, 2023).

Az antibiotikum rezisztencia az antibiotikumok okozta erős szelektív nyomásra adott evolúciós válasz. A rezisztenciagének horizontális géntranszfer révén gyorsan terjedhetnek a baktériumpopulációk között, míg a rezisztencia-mutációk vertikálisan öröklődhetnek. Ez a folyamat nagyrészt az antibiotikumok klinikai és mezőgazdasági túlhasználatának következménye. Az „antibiotikum-korszak” előtti patogén baktériumgyűjteményekben az antibiotikum-rezisztencia ritkán fordult elő, ami alátámasztja az emberi tevékenység szerepét a jelenség elterjedésében (Wright, 2010).

2.4.3 Ciprofloxacin hatásmechanizmusa

A ciprofloxacin a fluorokinolonok osztályába tartozó baktericid antibiotikum, amelyet 1983-ban szabadalmaztattak, és 1987-ben engedélyeztek orvosi felhasználásra. Széles hatásspektrumú gyógyszer bakteriális fertőzésekkel szemben, mint például húgyúti-, bőr-, lágyszövet-, csont-, ízületi-, alsó légúti-, és gyomor-bélrendszeri fertőzések, tüdőgyulladás, valamint szexuális úton terjedő betegségek. Ezek mellett alkalmazzák Crohn-betegség kezelésére és rákos sejtek visszaszorítására is. Alkalmazása történhet orálisan, intravénásan, vagy helyi készítményként is. Az elsődleges eliminációs útja a vese általi kiválasztása (Almutairi és munkatársai, 2024).

A ciprofloxacin (CIP) úgy fejt ki hatását, hogy meggátolja a bakteriális DNS-replikációt, olyan esszenciális enzimek megcélzásával, mint a DNS-giráz és DNS-topoizoméráz. Hatásmechanizmusa a Gram-negatív baktériumok ellen a leghatékonyabbak, de hatékonyságot mutat specifikus Gram-pozitív baktériumokkal szemben is. Ezen antibiotikum elleni rezisztencia mechanizmusai között van a DNS-giráz mutációi, az efflux pumpa aktivitás, vagy a plazmid közvetített rezisztencia (Almutairi és munkatársai, 2024).

2.4.4 Trimethoprim-Sulfamethoxazole hatásmechanizmusa

Az első szulfonamid típusú antibiotikumokat az 1930-as években fejlesztették ki, és 1935-ben alkalmazták először agyhártyagyulladás és szepszis kezelésére az Egyesült Államokban. 1968-ban merült fel ötletként a trimethoprim és a sulfamethoxazole kombinált alkalmazása, amely a két vegyület szinergista hatásán alapul (Grim és munkatársai, 2012).

A sulfamethoxazole (SMX) a szulfonamidok osztályába tartozó antibiotikum, melyet széles körben használnak bakteriális fertőzésekkel szemben, ilyenek például a húgyúti fertőzések, a

hörghurut és a prosztatagyulladás. Mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív baktériumok ellen is hatásos, ennek köszönhetően állattenyésztésben és vízinövény iparban is gyakran alkalmazzák bakteriális fertőzések kezelésére (Wang és Wang, 2018). A trimetoprim (TMP) rokona a szulfonamid antibiotikumoknak abból a szempontból, hogy zavarja a foszfát anyagcserét (Sköld és Swedberg, 2017).

A sulfamethoxazole és a trimetoprim kombinációja azért hatékony, mert a TMP és az SMX a folsav-szintézis útvonal két egymást követő lépését gátolja. Az SMX a dihidrofolsav képződését akadályozza a para-aminobenzoésavból, míg a TMP a dihidrofolát redukcióját blokkolja. A tetrahidrofolsav (folsav metabolikusan aktív formája) szintézisének gátlásával a TMP-SMX gátolja a bakteriális timidin szintézisét, ami a DNS-szintézis leállításához és baktericid hatáshoz vezet. Ez a kettős gátlás magyarázza a két antibiotikum által tapasztalható antibakteriális szinergizmust, és a TMP–SMX hatékonyságát a legtöbb *Enterobacteriaceae*, a *Chlamydia trachomatis*, a *Haemophilus influenzae*, a *Nocardia asteroides*, és számos *Streptococcus* és *Staphylococcus* törzs ellen. A vesén keresztüli kiürülése ugyancsak alkalmasá teszi húgyúti fertőzések kezelésére (Grim és munkatársai, 2012).

2.5 Tejsavbaktériumok és antibiotikumok előfordulása szennyvízben

Az emberi lét velejárója a hulladék keletkezése, melynek igen nagy része szennyvíz. A szennyvíz összetételét, minőségét és mennyiségét sok tényező befolyásolja, hiszen az emberek és a különböző iparágak nem termelnek azonos hulladékot (Henze és Comeau, 2008). Lényegében szennyvíznek minősül minden olyan víz, melynek minősége eltér az eredetitől, illetve amely emberi behatás által szennyeződött. A szennyvízben rengeteg szerves- és szervetlen anyag megtalálható, köztük emberi végtermék, ételmaradékok, mikroorganizmusok, vegyszerek és zsírok (Koul és munkatársai, 2022).

Az emberi bélrendszer normál, domináns lakói a tejsavbaktériumok, ezáltal jócskán megtalálhatóak a székletben is (Pawar és munkatársai, 2020). Egy kutatás során 114 egészséges fiatal önkéntes 15 napon keresztül meghatározott mennyiségű joghurtot fogyasztott, majd a székletükből vett mintában egyértelműen kimutathatóak voltak a joghurtkultúrában is jelen lévő *Lactobacillus delbrueckii* és a *Streptococcus thermophilus* baktériumok (Campo és munkatársai, 2005). A húgyutakban szintén találhatóak tejsavbaktériumok, amelyek fontos szerepet játszanak az uropatogén baktériumokkal szembeni védelemben. Ennek következtében a vizeletben is kimutathatóak, különösen egészséges nők esetében, mivel az egészséges hüvelyflóra oszlopos tagjaiként is helyt állnak (Kim és Park, 2018). Ebből következően

elmondhatjuk, hogy az emberi végtermékekből származó tejsavbaktérium megtalálható szennyvizeinkben is.

Világszerte évente több mint 100000 tonna antibiotikum kerül felhasználásra, melynek jelentős része a szennyvízbe kerül anyagcsereterméként, vagy eredeti formájukban (Györki, 2024). Az antibiotikumok szennyvízbe jutása különösen aggasztó problémát jelent az élővilág számára, ugyanis növeli a bakteriális rezisztenciát és az antibiotikum rezisztencia gének terjedését. Ehhez hozzájárul a világszinten megnövekedett antibiotikumfogyasztás, illetve a szennyezett szennyvizeknek kitett baktériumközösségek. A legtöbb antibiotikumhoz hasonlóan a ciprofloxacín jelentős része is metabolizálatlan állapotban ürül ki az emberi és állati szervezetből, így gyakran kerül a környezetbe. A környezetben megjelenő, megemelkedett CIP-koncentráció rezisztens baktériumtörzsek kialakulását idézheti elő kromozómamutáció révén, továbbá negatív hatást gyakorolhat nem célzott kórokozókra-, az algaközösségekre-, a növények fotoszintézisére- és a magasabb rendű növények morfológiájára is (Rakshit és munkatársai, 2013). A ciprofloxacín az egyik leggyakrabban alkalmazott széles hatásspektrummal rendelkező antibiotikum, amelyet gyakran igen magas koncentrációban mutatják ki különböző vízi környezetekben, ide értendők a felszíni vizek, a városi szennyvizek, valamint a gyógyszergyárakból és kórházakból származó szennyvizek, utóbbinál tapasztalható a legmagasabb érték (Qin és munkatársai, 2023). A sulfamethoxazole és a trimethoprim többnyire együttesen alkalmazott antibiotikum, és mivel kombinációjuk a világon a negyedik leggyakrabban használt alapvető gyógyszer, ezek is gyakran nagy koncentrációban jelennek meg a környezetben (Thiebault, 2020). Egy felmérés kimutatta, hogy az antibiotikumok közül a sulfamethoxazole, a trimethoprim és a ciprofloxacín voltak a leggyakrabban kimutatható anyagok. Nagy mennyiségben találták meg ezeket a gyógyszereket szennyvíztisztító telepek be- és kifolyóvizeiben, talajvízben, felszíni vizekben és az ivóvízben is világszerte. Ez az eredmény annak köszönhető, hogy az említett antibiotikumokat széles körben alkalmazzák emberi és állatgyógyászatban (Kutuzova és munkatársai, 2021).

2.6 γ -sugárzás bemutatása

A γ -sugárzás egy nagy energiával rendelkező elektromágneses sugárzás, amely nem rendelkezik töltéssel és nyugalmi tömeggel. Az atommag bomlása során, amikor a nagy energiájú állapotból alacsonyabb energiaszintre kerül, γ -fotonok szabadulnak fel. A γ -sugárzás gyakran kíséri az alfa- és béta-bomlást, mivel az alap radionuklid bomlása során gerjesztett magállapot jön létre. A γ -sugarak rendkívül rövid hullámhosszúak ($\approx 10^{-12}$ m) és nagy

frekvenciájúak, ezért jelentős áthatolóképeséggel bírnak, és csak a nagy sűrűségű anyagok, például az ólom vagy a beton képesek elnyelni őket. Az elektromágneses spektrum legnagyobb energiájú tartományába tartoznak, így ionizáló sugárzásnak minősülnek (AbuAlRoos és munkatársai, 2019).

A fotoelektromos hatás és a Compton-effektus révén a γ -sugarak képesek ionizálni az atomokat és molekulákat, vagyis elektronokat löknek ki az atommagból. Ezáltal reaktív részecskék keletkeznek, például hidroxilgyökök ($\cdot\text{OH}$), hidrogénatomok ($\text{H}\cdot$) és hidratált elektronok (e_{aq}^-). Ezt a folyamatot víz radiolízisének nevezzük, és ez képezi a gamma-sugárzás kémiai és biológiai hatásainak alapját (Woods és Pikaev, 1994). A víz radiolízise során keletkező gyökök rendkívül reaktívak, így oxidációs és redukációs reakciókat indítanak el a környezetükben. Ezen az elven alapul a gamma-sugárzás környezetvédelmi alkalmazása is, mivel a keletkező reaktív gyökök képesek szerves szennyező anyagokat lebontani és mikroorganizmusokat inaktíválni. Emiatt a gamma-besugárzás a nagyhatékonyságú oxidációs eljárások közé sorolható, amelyek célja a vízben lévő nehezen lebomló vegyületek és mikroorganizmusok eltávolítása erősen oxidáló részecskék segítségével (Getoff, 1996; Lajayer és munkatársai, 2019). A keletkező reaktív gyökök sejtszinten is hatnak, károsíthatják a baktériumok sejtmembránját, fehérjéit és nukleinsavait, ami a mikroorganizmusok inaktiválódását vagy pusztulását okozza (Bhatia és Pillai, 2019). Bár a gamma-sugárzás biológiai szövetekre nézve veszélyes, kontrollált körülmények között számos előnyt kínál. Alkalmazzák a nukleáris medicinában diagnosztikai és terápiás célokra, az élelmiszeriparban sterilizálásra, valamint a környezetvédelemben szennyvizek és iszapok fertőtlenítésére (Lajayer és munkatársai, 2019). A gamma-sugárzás tehát nemcsak fizikai jelenség, hanem olyan energiaforrás is, amely képes kémiai és biológiai folyamatokat beindítani. Ez az elv képezi alapját a gamma-sugárzással történő szennyvíztisztításnak és a mikroorganizmusokra gyakorolt hatások vizsgálatának.

2.6.1 Szennyvíztisztítás γ -sugárzással

A szennyvíz és az iszap kezelésére egyik hatékony és gyors eljárásnak minősül a γ -sugárzást alkalmazó besugárzási technológia. A különböző sugártípusok közül a γ -sugárzás hatékonyságát a szennyvíz és az iszap kezelésében, valamint újra hasznosításában számos kutatás igazolja (Lajayer és munkatársai, 2019). Gyakorlati előnyeit összehasonlították a béta sugárzással, s megállapították, hogy mélyebbre képes behatolni a szennyvíz vagy iszap rétegeibe. Ugyanolyan kórokozókkal végzett vizsgálatok során a γ -sugárzás esetében kisebb dózis is elegendőnek bizonyult a mikroorganizmusok elpusztításához (Getoff, 1996). A

módszer egyik legnagyobb előnye, hogy a besugárzásnál nincs szükség kémiai adalékanyagokra, a mikroorganizmusok inaktiválását nem befolyásolják a környezeti feltételek, nem keletkeznek karcinogén melléktermékek. A mikroorganizmusok nem képesek regenerálódni és szaporodni a fertőtlenítési folyamat után. A γ -sugárzás alkalmazása során a vízmolekulák radiolízise következik be, melynek során hidroxilgyökök ($\bullet\text{OH}$), hidrogénatomok ($\text{H}\bullet$) és hidratált elektronok (e_{aq}^-) keletkeznek. Ezek a rövid életű, de rendkívül reaktív részecskék oxidáló és redukáló hatásuk révén károsítják a mikroorganizmusokat és a szerves szennyezőket egyaránt (Lajayer és munkatársai, 2019). A $\bullet\text{OH}$ gyökök oxidálják a sejtmembrán lipideit, fehérjéit és nukleinsavait, míg a $\text{H}\bullet$ és e_{aq}^- redukáló hatásuk révén a sejtek belső biokémiai folyamatait befolyásolják. A sejtstruktúrák és enzimek ilyen irányú károsodása a baktériumok inaktiválódásához vagy elpusztulásához vezet (Spinks és Woods, 1990). Mindez különösen fontos a tejsavbaktériumok szempontjából is, amelyek a szennyvízben természetes módon előfordulnak. A γ -sugárzás hatására szerkezetük, anyagcseréjük és életképességük megváltozhat, ami hatással lehet antibiotikum-érzékenységükre is. Az ionizáló sugárzás okozta oxidatív stressz módosíthatja a sejtfal- és membránkomponenseket, valamint az enzimek működését, ezáltal befolyásolhatja, hogy a baktériumok miként reagálnak különböző antibiotikumokra.

A γ -sugárzás tehát kettős szerepet tölthet be a szennyvízkezelésben. Egyrészt fertőtlenítő és szennyezéscsökkentő technológia, másrészt olyan hatás, amely mikrobiológiai szinten is változásokat idéz elő, és ezáltal fontos modell a tejsavbaktériumokkal végzett kísérletekhez.

2.7 MALDI-TOF MS technika bemutatása

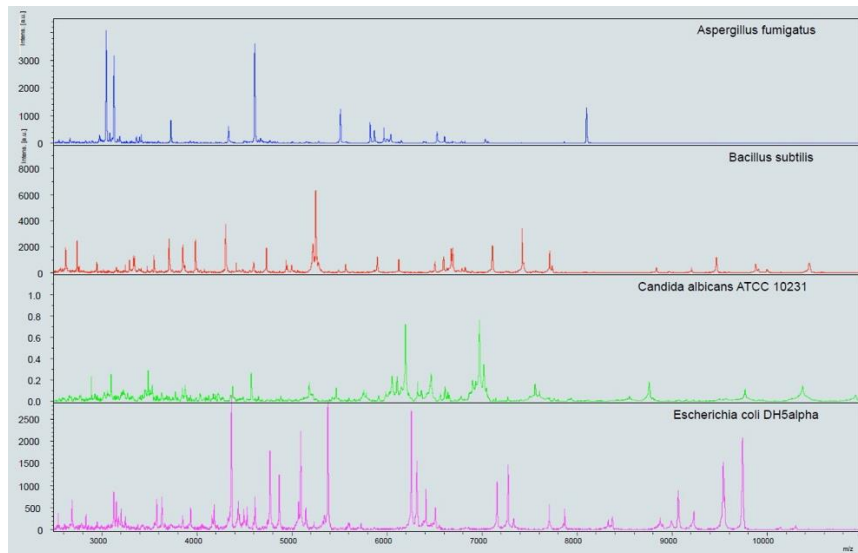
A Matriks-Asszisztált Lézer Deszorpció, Ionizáció, Repülési Idő mérésén alapuló Tömegspektrometria (MALDI-TOF MS) a mikrobiális jellemzés gyorsan és pontosan kivitelezhető módszere. Az alkalmazott technológia lehetővé teszi, hogy a vizsgált mikroorganizmusokról egyedi tömegspektrális ujjlenyomat készüljön, amely lehetővé teszi a mikrobiális azonosítást nemzetség- és fajszinten, ezek mellett bizonyos körülmények között alkalmazható törzstípusizálásra is. A módszer gyorsasága miatt jól alkalmazható orvosi diagnosztikai vizsgálatokban, környezetvédelmi vizsgálatokban, valamint az élelmiszer-minőség ellenőrzésében (Croatto és munkatársai, 2012).

A tömegspektrométer három fő részből épül fel. Az ionforrás ionizálás révén gázfázisba juttatja a minta molekuláit, a tömeganalizátor tömeg-töltés arány (m/z) szerint válogatja szét az ionokat, a detektor pedig az előzetesen szétválasztott ionokat azonosítja. Az ionizációs

módszerek közül a MALDI-TOF lágy ionizációs technika, melynek köszönhetően alkalmas nem illékony biomolekulák, különösen fehérjék ionizálására és elpárologtatására (Croxatto és munkatársai, 2012).

A mintaelőkészítés során, a mintát egy energiaelnyelő, szerves mátrixba ágyazzuk. A mátrix száradása során kristályosodik, melynek hatására a mátrixba zárt minta is kristályosodik. A preparálás után a mintákat a lézersugár ionizálja, melynek következtében a deszorpció és az ionizáció következtében a mintában található analitokból egyedileg protonált ionok jönnek létre. Ezt követi a protonált ionok gyorsítása rögzített potenciálon, ahol tömeg-töltés arány szerint elválnak egymástól. Ezután a töltött anionokat több fajta tömeganalizátorral detektálhatják, MALDI-TOF esetében repülési idő analizátorral (TOF) történik a vizsgálat. A MALDI-TOF analízis során az ionok tömeg-töltés arányának méréséhez meghatározzák a repülési cső hosszának megtételéhez szükséges időt. A TOF által szolgáltatott információk alapján egy jellegzetes spektrumot kapunk (1.ábra), amelyet peptid tömeg ujjlenyomatnak neveznek (Singhal és munkatársai, 2015).

1. ábra: Mikroorganizmusok MALDI-TOF MS készített egyedi tömegspektrumai
(Forrás: Bruker Daltonics, 2016)



3. Alkalmazott anyagok és módszerek

3.1 A kísérletben használt tejsavbaktériumok bemutatása

Kísérletem során *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* baktériumfajba tartozó izolátumokat használtam, amelyek a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem - Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéncia és -biztonság Tanszék Törzsgyűjteményéből származnak. Kísérletemet öt különböző törzssel kezdtem el, melyek kódnevei a G4, ZB1, T3, MILM2 és G5. Az említett törzsek joghurtokból lettek izolálva.

3.2 Tenyésztéshez alkalmazott anyagok és módszerek

3.2.1 A vizsgálatban használt táptalaj bemutatása

A tejsavbaktériumok tenyésztéséhez használt táptalaj félkész állapotú VWR® MRS broth-ból készült (1. táblázat).

1. táblázat: VWR® MRS (deMan, Rogosa and Sharpe) tápleves összetétele g/l tartományban
(Forrás: VWR® MRS broth csomagolásán feltüntetve)

Összetevők	g/l
Enzimatikusan hidrolizált kazein	10,00
Húskivonat	10,00
Élesztőkivonat	5,00
Glükóz	20,00
Dikálium-hidrogén-foszfát	2,00
Nátrium-acetát	5,00
Diammónium-citrát	2,00
Magnézium-szulfát	0,20
Mangán-szulfát	0,05
Polietilén-szorbitán-monooleát (Tween 80)	1,08

Az összemért félkész tápközeget a csomagoláson szereplő utasítás alapján desztillált vízzel felöntöttem (1000 milliliterhez 55,2 g). Az alábbi képlet segítségével kalkuláltam a kísérlethez szükséges mennyiséget:

$$\text{Bemérendő félkész tápleves (g)} = \frac{55,2\text{g} * \text{elkészítendő térfogat(ml – ben)}}{1000\text{ml}}$$

A tápleves megszilárdításához bakteriológiai agart (Biolab) használtam. Az agar mennyiségét a bemért tápleves tömegéhez képest 1,5%-a állítottam, amelyet az alábbi képlettel határoztam meg:

$$\text{Agar (g)} = \text{bemérendő félkész tápleves (g)} * 1,5\%$$

A táptalaj összeállítása után az üvegeket autoklávban sterilizáltam 121°C fokon 15 percen keresztül. Az sterilizált táptalajt felolvasztott állapotban Petri-csészébe öntöttem elszívófülke alatt, majd felhasználás előtt hagytam megszilárdulni.

3.2.2 Tejsavbaktérium izolátumok felélesztése

A -80°C fokon tárolt baktériumtörzseket kivettem a fagyasztóból, majd szobahőmérsékleten hagytam őket enyhén felolvadni. Elszívófülke alatt a kriocsövekből kivettem 100 µl-nyit a baktériumszuszpenzióból steril hegyes automata pipetta segítségével. A szuszpenziót rápipettáztam a megszilárdult MRS agar felszínére, majd steril szélesztőbottal egyenletesen felületi szélesztést végeztem. Mind az öt törzsből (G4, ZB1, T3, MILM2 és G5) párhuzamos szélesztéseket készítettem.

3.2.3 Tenyésztés

A leoltott Petri-csészéket fejjel lefelé anaerob tenyészedénybe helyeztem, ezt követően a csészék mellé Thermo Scientific™ Oxoid™ AnaeroGen™ 2,5L anaerob tasakot tettem. A tasak segíti az anaerob légkör kialakítását a tenyészedényben: 2,5 órán belül <0,1% oxigénszintet, valamint 24 órán belül 7-15,0% közötti széndioxid koncentrációt biztosít. A tasak csomagolásának felbontása után kevesebb, mint egy perc alatt légmentesen lezártam a tenyészedényt. Az edényt 37°C fokos termosztátban inkubáltam 24 órán keresztül.

3.3 Agardiffúziós teszt

Az agardiffúziós teszt során a mikroorganizmusból összefüggő baktériumréteget (pázsitot) készítettem. Ennek kialakítása miatt a felélesztett törzsekből 0,5 optikai denzitású (OD), azaz

6×10^8 /ml baktérium koncentrációjú törzsoldatot készítettem és ebből végeztem el a felületi szélesztést. Elszívófülke alatt a tenyészetekből steril oltókaccsal kis mennyiségű mintát vettem, majd 9 ml steril nátrium-klorid-oldatot (hígító folyadék, 0,9%-os NaCl) tartalmazó kémcsőbe juttattam. Vortex segítségével szuszpendáltam a mikrobákat. BioScan DEN-1B McFarland Denaitometer készülék segítségével folyamatosan ellenőriztem az oldatok optikai denzitását. A hígítást egészen addig végeztem, amíg elértem a 0,5 OD értéket. Az optikai denzitás a kémcsőben lévő folyadék sűrűségével van összefüggésben, a 0,5 OD érték 6×10^8 baktérium/ml koncentrációnak felel meg.

A kiöntött és megszilárdult agarlemez felületére elszívó fülke alatt 100 μ l inokulumot pipettáztam, majd lelángolt szélesztőbottal eloszlattam a felszínén. Ezt követően helyeztem fel az antibiotikum korongokat a leoltott agar felszínére. Vizsgálatom során Ciprofloxacin (5 μ g), és Trimethoprim + Sulfamethoxazole (1,25/23,75 μ g) antibiotikum korongokat használtam. Steril csipesszel helyeztem a korongokat az agarra úgy, hogy kellő távolság legyen a korongok között elkerülve az esetleges feltisztulási zónák összeolvadását. Minden különböző antibiotikum és törzs között lelángoltam a csipeszt. Minden törzs esetében három párhuzamos leoltást készítettem. A leoltott Petri-csészéket a már ismertetett módon anaerob tenyészедényben, anaerob tasakkal, 37°C fokos inkubátorban 24 óráig tenyésztettem.

3.4 MIC érték meghatározása

A MIC (Minimum Inhibitory Concentration), azaz a minimális gátló koncentráció egy olyan érték, amely megadja azt a legkisebb antibiotikum koncentrációt, amely még gátolja a baktériumok növekedését. Ezen érték meghatározásához hígítási sort készítettem a kísérletben használt antibiotikumokból. Táplevesként ugyan úgy VWR® MRS broth-ot alkalmaztam azzal a kivétellel, hogy elkészítésénél nem adtam hozzá agart.

A meghatározáshoz a por alakú antibiotikumból és MRS táplevesből oldatokat készítettem. Mivel por formában a Trimethoprim és a Sulfamethoxazole külön-külön érhető el, így ezeket külön teszteltem. A Ciprofloxacinból és a Trimethoprim-ből 20 μ g/ml koncentrációjú oldatot készítettem. Ha 100 ml oldat elkészítéséhez 0,002 g antibiotikumot kellene kimérni. Ezt 20 ml-re átszámolva a következő eredményt kapjuk:

$$\text{Antibiotikum (CIP, TRIM): } \frac{0,002 * 20}{100} = 0,0004g$$

A Sulfamethoxazole általában jóval nagyobb koncentrációban használatos, Trimethoprimmal vegyített gyógyszerekben is nagyobb arányban található meg, így az ebből készült oldat koncentrációját 200 µg/ml-re készítettem. Az előbbi sémát követve, ha 100 ml-hez 0,02g szükséges, átszámolva:

$$\text{Antibiotikum (SULF)}: \frac{0,02 * 20}{100} = 0,004g$$

Analitikai mérlegen kimértem a szükséges mennyiségeket, elszívó fülke alatt 20 ml steril desztillált vízhez hozzáadagoltam, majd homogenizáltam. Ezután steril kémcsövekbe kimértem 5 ml táplevest. A hígítási sor elkészítéséhez a négy kémcső első tagjához hozzáadtam 5 ml antibiotikum oldatot, így az első tag a Ciprofoxacin és Trimethoprim esetében 10 µg/ml, míg Sulfamethoxazole-nál 100 µg/ml koncentrációjú lett. Felező hígítást alkalmaztam, így az első tag alapos homogenizálása után kivettem a kémcsőből 5 ml oldatot és a második taghoz adtam. Ezzel a módszerrel további két hígítási tagot készítettem. A kapott koncentrációk a következőképp alakultak:

Ciprofloxacin/Trimethoprim:

$$1) 10\mu g/ml \xrightarrow{:2} 2) 5\mu g/ml \xrightarrow{:2} 3) 2,5\mu g/ml \xrightarrow{:2} 4) 1,25\mu g/ml$$

Sulfamethoxazole:

$$1) 100\mu g/ml \xrightarrow{:2} 2) 50\mu g/ml \xrightarrow{:2} 3) 25\mu g/ml \xrightarrow{:2} 4) 12,5\mu g/ml$$

Az előzetes eredmények alapján kiválasztott, felélesztett törzsekből (G4, ZB1) OD 1,5 értékű oldatokat készítettem, ezután 100 µl mennyiséget oltottam az egyes kémcsövekbe, majd Vortex segítségével homogenizáltam őket. Mindegyik hígítási sorból három párhuzamost készítettem. A kémcsöveket anaerob tenyészedényben Thermo Scientific™ Oxoid™ AnaeroGen™ 2,5L anaerob tasak mellett eltettem inkubálni 37°C fokon 24 órára.

3.5 Besugárzandó minták előkészítése

A besugárzást három különböző típusú mintával végeztem mindkét, a későbbiekben kiválasztott baktériumtörzs (G4, ZB1) esetében. Elszívó fülke alatt sterilizált hígító folyadékkal elkészítettem a baktérium törzsoldatot a felélesztett törzsekből úgy, hogy a

mikrobakoncentráció 0,5 optikai denzitású, azaz 6×10^8 /ml legyen. Az elkészült oldatból 4 darab 15 ml-es centrifuga csőbe kimértem 5-5 ml-t, ezek voltak a beugárázásra kész minták.

A besugárázást két különböző koncentrációjú antibiotikumot tartalmazó mintával is elvégeztük. Az egyikhez a MIC érték meghatározásánál kapott eredményt használtuk, a másikonál korábbi kutatások alapján környezetben kimutatott koncentrációkat (felszíni vizekben a Ciprofloxacin 0,1-100 ng/L, a Trimethoprim 0,8-223 ng/L és a Sulfamethoxazole 30-204 ng/L) vettünk figyelembe (Qin és munkatársai 2023; Chițescu és munkatársai, 2021) és ezek alapján választottunk ki a környezeti koncentrációk értéket. A törzsoldatból kimértem 2×40 ml-t steril, 100 ml-es üvegbe, ezekbe kerültek az antibiotikum-oldatok. Először készítettem 10 μ g/ml koncentrációjú antibiotikum alapoldatot 100 ml steril desztillált vízbe. Ennek elkészítéséhez 100 ml desztillált vízhez 0,001 g antibiotikumot mértem ki analitikai mérlegen.

A MIC értéknél a 1,25 μ g/ml antibiotikum koncentrációt 40 ml baktérium oldatban a következők szerint számoltuk ki:

$$C_{\text{alapoldat}} * V_{\text{alapoldat}} = C_{\text{MIC}} * (V_{\text{alapoldat}} + 40) \quad (1)$$

$$10 * V_{\text{alapoldat}} = 1,25 * (V_{\text{alapoldat}} + 40) \quad (2)$$

$$(10 * V_{\text{alapoldat}}) - (1,25 * V_{\text{alapoldat}}) = 50 \quad (3)$$

$$8,75 * V_{\text{alapoldat}} = 50 \quad (4)$$

$$V_{\text{alapoldat}} = \frac{50}{8,75} = 5,71 \text{ ml} \quad (5)$$

A környezeti koncentráció 100 ng/l értékre állítottam be, ennek elkészítéséhez három hígítási lépésen kellett végig menni. Steril kémcsőbe kimértem 10 μ l alapoldatot, majd ehhez adtam 990 μ l steril desztillált vizet, így százszoros hígítást értem el, aminek koncentrációja 0,1 μ g/ml. A második hígításnál steril kémcsőbe kimértem 100 μ l oldatot az első hígítási tagból majd hozzámértem 900 μ l desztillált vizet, ezzel tízszeresére hígult, koncentrációja 0,01 μ g/ml lett. A harmadik hígítási tag már a végleges környezeti koncentráció, 40 ml baktérium oldathoz adtam hozzá 400 μ l-nyit a második hígítási tagból, a koncentráció százszorosára hígult:

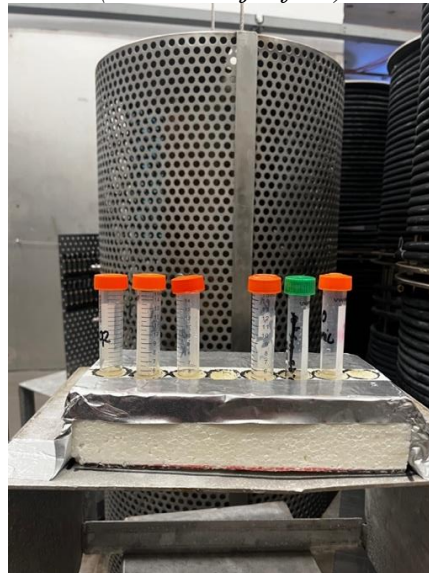
$$0,0001 \mu\text{g/ml} \rightarrow 0,1 \text{ ng/ml} \rightarrow 100 \text{ ng/l}$$

A MIC és a környezeti koncentrációt tartalmazó baktérium oldatokból is kimértem 4x5 ml mintát 15 ml-es centrifuga csövekbe. Mindkét baktériumtörzsnél így készítettem elő a mintákat, és mindhárom antibiotikum esetében az ismertetett módon készítettem el az oldatokat. Az összes mintából párhuzamos mintákat is készítettem a mérési eredmény megbízhatóságának növelése érdekében.

3.6 Besugárzás

A besugárzásokat az Izotóp Intézet Kft. laboratóriumában hajtottuk végre, SLL-01 típusú ^{60}Co γ -sugárforrás felhasználásával. A besugárzó panoráma típusú, $4 \times 4 \text{ m}^2$ alapterületű besugárzótérrel rendelkezik. A ^{60}Co sugárforrásokat nem működő állapotban padlószint alatti, vízzel töltött aknában tárolják, ezeket besugárzáskor a felszínre húzzák. A minta oldatokat tartalmazó üvegedényeket kézzel helyeztük el a sugárforrás környezetébe 2 kGy/h dózisteljesítményű helyre (2. ábra). A minták besugárzásánál három különböző dózist alkalmaztunk: 0,2, 0,4, és 0,6 kGy-t (kilogray). Minden baktériumtörzs és antibiotikum esetében készült egy kezeletlen, úgynevezett 0-ás minta, amely kontrollként szolgált az összehasonlításhoz.

2. ábra: Minták γ -sugárzással való kezelése
(Forrás: saját fotó)



3.7 Besugárzott minták tenyésztése

A besugárzott mintákat VWR[®] MRS broth-ból és Biolab bakterológiai agarból készült táptalajra oltottam le. Minden mintából párhuzamos leoltást is készítettem. Felezett Petri-csészébe öntöttem ki a táptalajt, majd a megszilárdult agar felületének mindkét oldalára $50 \mu\text{l}$

mintát pipettáztam, majd lelángolt szélesztőbottal szélesztettem elszívófülke alatt. A Petri-csészéket anaerob tenyészedényben Thermo Scientific™ Oxoid™ AnaeroGen™ 2,5L anaerob tasakkal tettem el inkubálni 37°C fokon 24 órára.

Elvégeztem az agardiffúziós tesztet a besugárzott minták esetében is. Az antibiotikum nélkül besugárzott törzseket, valamint a környezeti antibiotikum koncentráció mellett besugárzott mintákat vettem alá ennek a módszernek. A telepekből hígító folyadékot tartalmazó kémcsövekbe 0,5 optikai denzitású, azaz 6×10^8 /ml koncentrációjú oldatot készítettem. Petri-csészébe kiöntött, és megszilárdult MRS táptalaj felületére pipettáztam 1 μ l mintát elszívó fülke alatt, amelyet lelángolt szélesztőbottal szélesztettem. Ezután lelángolt csipesszel ráhelyeztem az agar felületére a Bio Rad Ciprofloxacín (5 μ g), és Trimethoprim + Sulfamethoxazole (1,25/23,75 μ g) antibiotikum korongokat. Minden esetben három párhuzamost készítettem. Az elkészült Petri-csészéket elraktam inkubálni anaerob tenyészedénybe anaerob tasak mellett 37 °C fokon 24 órára.

3.8 Besugárzott törzsek vizsgálata MALDI-TOF MS segítségével

A kitenyészett törzseket speciálisan kialakított tárgylemezen preparáltam. A preparáláshoz a baktériumtörzsekből steril fogpiszkáló segítségével elszívófülke alatt mintát vettem, majd a tárgylemez kijelölt részére vékony rétegben felvittem. Ezután 1 μ l hangyasavat cseppenttem minden minta felületére. Miután a hangyasav megszáradt, 1 μ l HCCA (α -Ciano-4-hidroxicinnaminsav) mátrixot cseppenttem a mintákra, ennek megszáradása után elkészült a preparátum. A tárgylemezen lévő preparátumok fehérjemintázatának azonosítását MALDI-TOF MS (Mátrix-Asszisztált Lézer Deszorpció, Ionizáció, Repülési Idő mérésén alapuló Tömegspektrometria) tömegspektrométer segítségével vizsgáltuk meg. A mintákat 100-1000 m/z tartományban, a stresszfehérjék mérési szintjén, valamint 5000-10000, 10000-15000 és 15000-21000 m/z tartományban mértük meg.

Az ábrákat aggregált klaszterezéssel készítettük, amelynek során minden kezelés esetében a csúcsintenzitások átlagértékeit számoltuk ki, és ezeket használtuk az elemzéshez. A klaszterezést Ward-féle összekapcsolási módszerrel (Ward's linkage method) végeztük, amely minimalizálja a klasztereken belüli varianciát, és kiegyensúlyozott klasztereket eredményez. Az esetek közötti távolságot négyzetes euklideszi távolság (squared Euclidean distance) alapján határoztuk meg, mivel ez érzékenyebb a nagyobb intenzitáskülönbségekre.

Az elemzés eredményeit dendrogram formájában ábrázoltuk, amely lehetővé tette a kezelések közötti hasonlóságok és eltérések vizuális összehasonlítását.

4. Eredmények és értékelésük

4.1 A kísérletben vizsgált törzsek antibiotikumérzékenységének eredményei

A tenyésztési idő letelte után lemértem a gátlási zónák átmérőjét. Az egyes mérésekből kapott értékek átlagait a 2. táblázat tartalmazza, amely a ZB1, G4, T3, MILM2 és G5 törzsek esetében mutatja a Ciprofloxacin (CIP) és a Trimethoprim–Sulfamethoxazole (SXT) antibiotikumokra adott válaszokat.

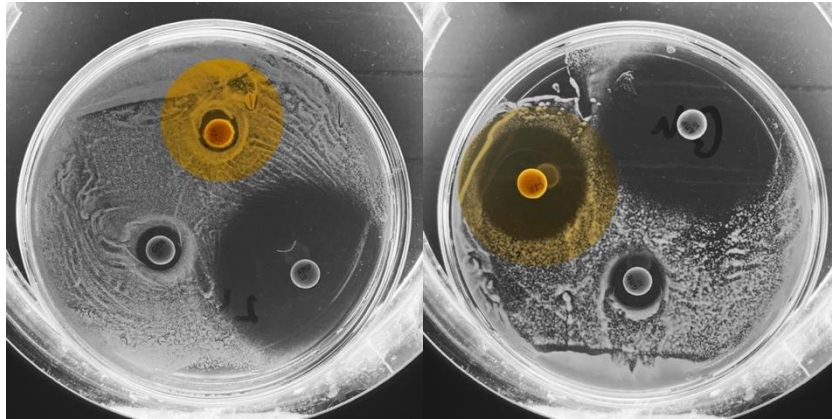
2. táblázat: ZB1, G4, T3, MILM2 és G5 törzs agardiffúziós tesztnél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacin (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében

(Forrás: saját munka)

Törzs	CIP (mm)	SXT (mm)
ZB1	11,7 ± 0,58	24,3 ± 0,58
G4	21,7 ± 0,58	10,3 ± 0,58
T3	8,3 ± 7,23	27 ± 1
MILM2	10,3 ± 0,58	3,3 ± 5,78
G5	13,7 ± 1,53	6 ± 5,20

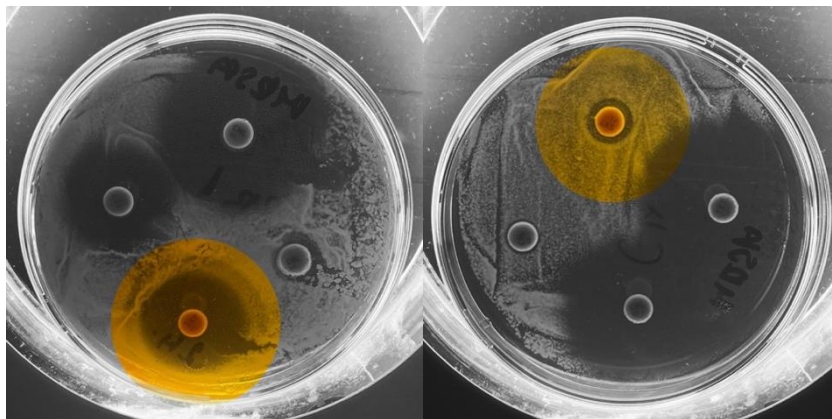
Átlagosan a Ciprofloxacin esetében a ZB1 törzs gátlási zónája 11,7 mm, a G4 törzsnél 21,7 mm, T3 törzsnél 8,3 mm, MILM2 esetében 10,3 mm, és G5 törzsnél 13,7 mm volt. A Trimethoprim-Sulfamethoxazole alkalmazásakor a ZB1 törzs 24,3 mm, G4 törzs 10,3 mm, a T3 27 mm, a MILM2 3,3 mm és a G5 törzs 6 mm gátolt zónát eredményezett. Az eredmények alapján a további vizsgálataimban a ZB1 és a G4 törzseket alkalmaztam. Az antibiotikum-érzékenység megítélésénél a 20 mm-nél nagyobb feltisztulási zóna érzékenységet, a 19 és 15 mm érték átmeneti érzékenységet, míg a 14 mm alatti zóna rezisztenciát jelez (Kawacka és munkatársai, 2023). Ezek alapján megállapítható, hogy Ciprofloxaccinnal szemben a ZB1 törzs rezisztens, a G4 pedig érzékeny (3. ábra).

3. ábra: ZB1 (bal) és G4 (jobb) törzs Ciprofloxaccinnal szembeni gátlási zónái
(Forrás: saját fotó)



Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében az eredmény ellentétesen alakult, a ZB1 törzs érzékeny, míg a G4 törzs rezisztensnek bizonyult (4.ábra).

4. ábra: ZB1 (bal) és G4 (jobb) törzs gátlási zónái Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében
(Forrás: saját fotó)



4.2 MIC érték meghatározás eredményei

A 24 óra tenyésztési idő leteltével a kémcsöveket szemrevételezéssel értékeltem. Egyértelműen megfigyelhető volt a változás: a baktériumok szaporodását a kémcső alján képződött fehéres üledék jelezte.

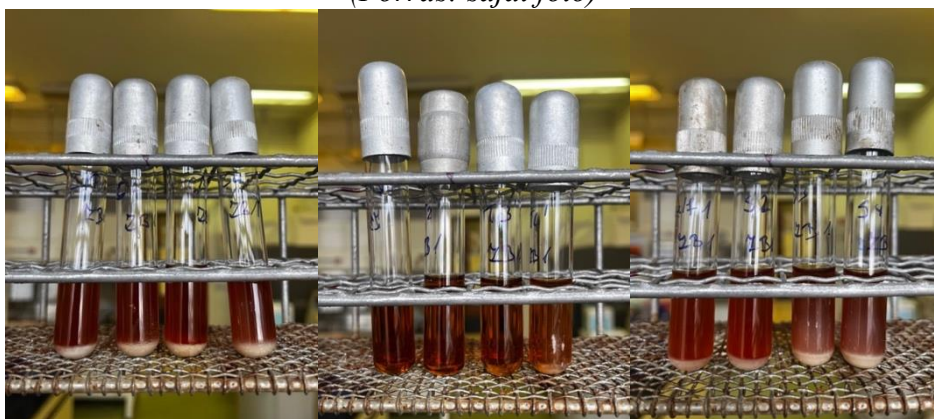
A G4 törzs az agardiffúziós teszt alapján várt eredményt mutatta. Ciprofloxacin esetében a hígítási sor első három tagjában nem volt tapasztalható mikróbanövekedés, csak az utolsó, negyedik tagnál, ahol az antibiotikum koncentráció 1,25 µg/ml volt. Ezzel szemben Trimethoprim és Sulfamethoxazole esetében is minden kémcsőben tapasztalható volt növekedés, ami arra utal, hogy a törzs ezzel az antibiotikum kezeléssel szemben rezisztens (5.ábra).

5. ábra: Ciprofloxacin (bal), Trimethoprim (közép) és Sulfamethoxazole (jobb) MIC érték meghatározás G4 törzs esetében
(Forrás: saját fotó)



A ZB1 törzs az agardiffúziós tesztben, a trimethoprim esetében, az első három hígítási tagban nem mutatott növekedést, csak a negyedik, utolsó kémcsőben, amelynek antibiotikum-koncentrációja 1,25 $\mu\text{g/ml}$ volt. Ciprofloxacin esetében mind a négy kémcsőben tapasztalható volt növekedés, ezzel bizonyítva, hogy erre az antibiotikumra, a beállított koncentrációkkal szemben rezisztens. Az említett két antibiotikum esetében a korongteszt eredményei alapján várt eredmények jöttek ki. Sulfamethoxazole esetében azonban mind a négy hígítási tagban tapasztalható volt növekedés, így a mikroba erre rezisztensnek bizonyult. Mivel az antibiotikum korong, amit az agardiffúziós tesztnél alkalmaztam tartalmazta mind a Sulfamethoxazole, mind pedig a Trimethoprim hatóanyagot valószínűleg csak az utóbbira volt érzékeny (6.ábra).

6. ábra: Ciprofloxacin (bal), Trimethoprim (közép) és Sulfamethoxazole (jobb) MIC érték meghatározás ZB1 törzs esetében
(Forrás: saját fotó)



4.3 Besugárzott törzsek – agardiffúziós teszt eredmények

24 órás tenyésztés után a Petri-csészéket megvizsgáltam, és lemértem a gátlási zónák átmérőjét. Először az antibiotikum nélküli G4 törzs mintáit értékeltem (3.táblázat).

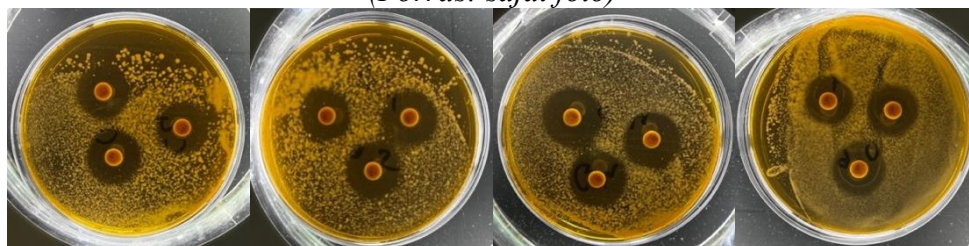
3. táblázat: Besugárzott G4 törzs agardiffúziós tesztnél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacin (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében
(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	CIP (mm)	STX (mm)
0	21 ± 0	0 ± 0
0,2	20,6 ± 0,58	0 ± 0
0,4	21,3 ± 0,58	0 ± 0
0,6	18,7 ± 0,58	9,6 ± 1,15

A 3. táblázat adatai alapján jól megfigyelhető, hogy Ciprofloxacin esetében az összes dózissnál érzékeny maradt a mikroba (7.ábra), Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében pedig mindenhol rezisztens (8.ábra). Ez az eredmény azt mutatja, hogy a G4 törzs érzékenysége nem változott a besugárzás hatására.

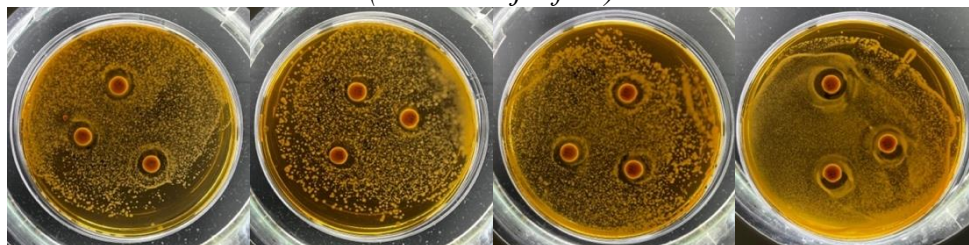
7. ábra: G4 törzs Ciprofloxacin agardiffúziós teszt 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve (balról jobbra)

(Forrás: saját fotó)



8. ábra: G4 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve (balról jobbra)

(Forrás: saját fotó)



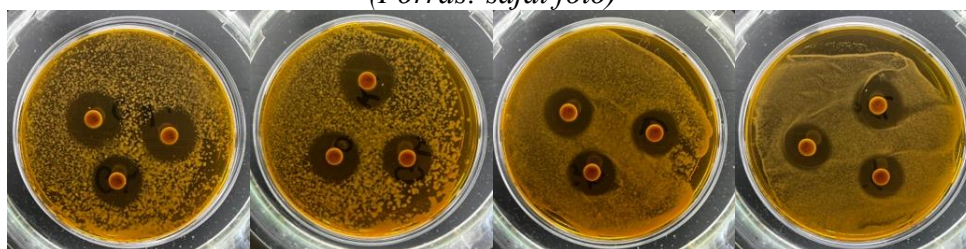
A G4 törzs esetében a Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole környezeti koncentrációjával kezelt, majd ezt követően besugárzott minták gátlási zónáit is lemértem. Először a Ciprofloxacin korongokra adott eredményeket értékeltem (4.táblázat).

4. táblázat: G4 törzs Ciprofloxacin agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett
(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	Ciprofloxacin (mm)	Trimethoprim (mm)	Sulfamethoxazole (mm)
0	19,7 ± 0,58	23,6 ± 0,58	19,7 ± 0,58
0,2	18 ± 0	22,3 ± 0,58	19,3 ± 0,58
0,4	18,7 ± 0,58	20 ± 0	17,7 ± 0,58
0,6	17,7 ± 1,15	17,7 ± 0,58	17,7 ± 0,58

Az antibiotikum nélkül besugárzott törzsekhez képest itt már tapasztalható volt minimális változás a Ciprofloxacin korong körül tapasztalható feltisztulási zónákban. Ciprofloxacin környezeti koncentrációja mellett a feltisztulási zóna a besugárzás nélküli mintában még érzékeny tartományba esik, azonban 0,2 kGy dózistól kezdve az értékek elmozdultak az átmeneti tartományba (9.ábra). Trimethoprim jelenlétében 0-tól 0,4 kGy-ig változatlanul érzékeny maradt a törzs, míg 0,6 kGy dóziszánál átmeneti érzékenység volt tapasztalható. Sulfamethoxazole esetében 0 és 0,2 kGy-nél még érzékeny a törzs, azonban 0,4 és 0,6 kGy-nél itt is átmeneti tartományba tolódott az érték.

9. ábra: Ciprofloxacin gátlási zónák 0; 0,2; 0,4 és 0,6 kGy dózissal kezelt (balról jobbra) G4 törzs környezeti koncentrációnyi Ciprofloxacin jelenlétében
(Forrás: saját fotó)



Ezt követően a Trimethoprim-Sulfamethoxazole korongokra adott eredményeket is megmértem (5.táblázat).

5. táblázat: G4 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacinnal, Trimethoprimmel és Sulfamethoxazole mellett

(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	Ciprofloxacinnal (mm)	Trimethoprimmel (mm)	Sulfamethoxazole mellett (mm)
0	8,3 ± 0,58	10 ± 0	10 ± 1
0,2	0 ± 0	12 ± 2	10,7 ± 0,58
0,4	9,3 ± 0,58	10 ± 0	11,3 ± 0,58
0,6	0 ± 0	10,3 ± 0,58	11,7 ± 0,58

A táblázat alapján megállapítható, hogy ebben az esetben nem történt változás az érzékenység tekintetében, a törzs rezisztens maradt Trimethoprim-Sulfamethoxazole-al szemben.

A ZB1 törzssel is elvégeztem ugyan ezeket a méréseket. Először ez esetben is az antibiotikum nélküli tenyészeteket vizsgáltam (6.táblázat).

6. táblázat: Besugárzott ZB1 törzs agardiffúziós teszténél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacinnal (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében

(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	CIP (mm)	STX (mm)
0	14 ± 1,73	24,7 ± 1,15
0,2	12 ± 1	23,7 ± 1,15
0,4	12 ± 1,73	24 ± 1,73
0,6	11 ± 0	24,3 ± 0,58

A táblázatban feltüntetett gátlási zónák átlagértékéből látható, hogy Ciprofloxacinnal esetében minden dózisonál a ZB1 törzs rezisztensnek bizonyult, Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében pedig érzékeny lett. Ezekből az eredményekből megállapíthatjuk, hogy az érzékenységük nem változott a besugárzás nélküli eredeti mintához képest.

A ZB1 törzsnél is lemértem a Ciprofloxacín, Trimethoprim és Sulfamethoxazole környezeti koncentrációjával kezelt és ezt követően besugárzott minták gátlási zónáit. Itt is a Ciprofloxacín korongokra adott gátlási zónákat olvastam le (7.táblázat).

7. táblázat: ZB1 törzs Ciprofloxacín agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacín, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett
(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	Ciprofloxacín (mm)	Trimethoprim (mm)	Sulfamethoxazole (mm)
0	10,3 ± 0,58	11,7 ± 0,58	12,7 ± 2,90
0,2	12,7 ± 0,58	11,3 ± 0,58	12,3 ± 0,58
0,4	12,7 ± 1,53	10 ± 0	11,3 ± 0,58
0,6	11,3 ± 1,53	10,3 ± 0,58	12 ± 0,58

A táblázat alapján elmondható, hogy a ZB1 Ciprofloxacínra adott érzékenysége nem változott a környezeti koncentrációkat tartalmazó besugárzott minták esetében sem, rezisztens maradt, mint eredeti állapotában.

Ezután Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében is lemértem a gátlási zónákat (8.táblázat).

8. táblázat: ZB1 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacín, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett
(Forrás: saját munka)

Dózis (kGy)	Ciprofloxacín (mm)	Trimethoprim (mm)	Sulfamethoxazole (mm)
0	29 ± 2,65	26 ± 1	25 ± 1
0,2	28 ± 1,73	25,3 ± 0,58	24,7 ± 0,58
0,4	28 ± 2,65	28 ± 1,73	25,7 ± 0,58
0,6	25,3 ± 0,58	25 ± 0	25 ± 0

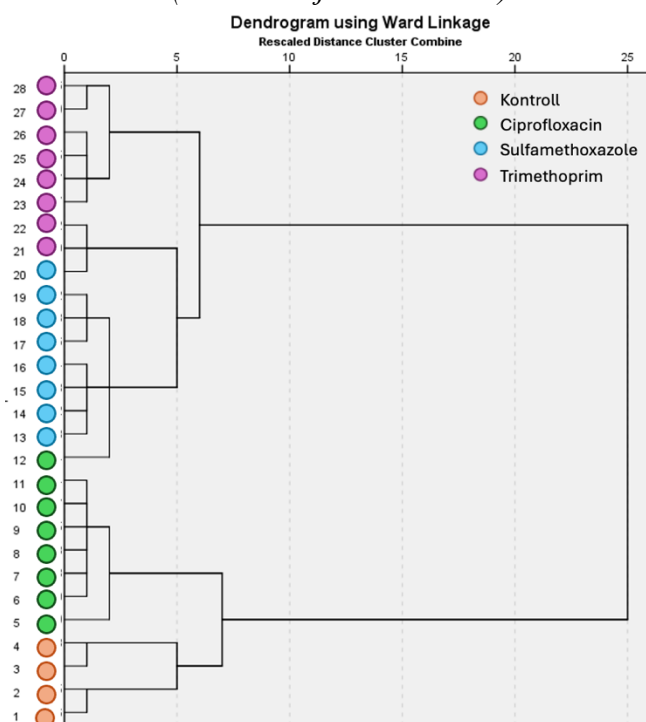
A kapott eredmények alapján megállapítható, hogy a ZB1 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole-ra mutatott érzékenysége megmaradt, sőt, a felélesztett törzsnél tapasztalt 24,2 mm-es átlagolt átmérőhöz képest kis mértékben növekedett is.

4.4 Besugárzott törzsek tömegspektrumainak klaszteranalízise

A különböző mérési tartományokban felvett tömegspektrumok dendrogramjai mind a G4, mind a ZB1 izolátumok esetében azt mutatják, hogy a minták elsősorban az izolátum típusa szerint, nem pedig a környezeti hatás alapján csoportosíthatók. Abban az esetben amikor a törzseket külön-külön vizsgáltam, az elkülönülés elsősorban az alkalmazott antibiotikumokhoz volt köthető. A négy különböző mérettartományban felvett tömegspektrumok klaszteranalízise alapján az 5000-10000 m/z tartomány adott egyértelmű eredményeket.

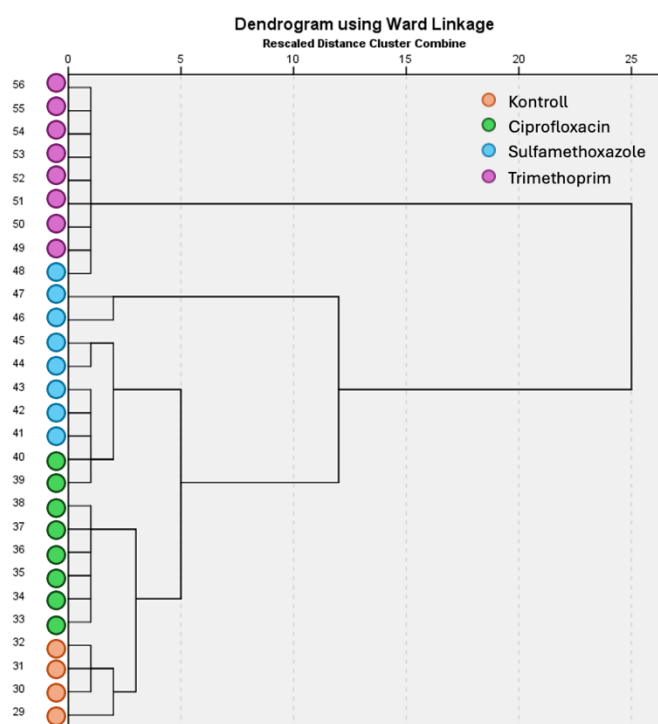
A G4 törzs esetében az 5000-10000 m/z tartományban azt tapasztaltam, hogy a preparált minták két fő csoportra oszthatók. Az alsó csoportban a kontroll és a Ciprofloxacin-nel kezelt minták helyezkedtek el, kivéve a 12-es számú mintát. A felső főcsoportban a Trimethoprim és Sulfamethoxazole tartalmú kezelések találhatók. Mivel a G4 törzs Trimethoprim-ra és Sulfamethoxazole-ra rezisztens, Ciprofloxacin-re pedig érzékeny, valószínűsíthető, hogy az érzékenység és rezisztencia alapján váltak el a csoportok egymástól (10. ábra).

10. ábra: G4 törzs dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban (A kezelés számok részletes adatait az 1-es melléklet táblázata tartalmazza.)
(Forrás: saját szerkesztés)



A ZB1 törzs esetében is az 5000-10000 m/z tartományban készült dendrogram volt a legértékesebb. Ebben az esetben is két főcsoport alakult ki. Az alsó főcsoportban a kontroll, a Ciprofloxacin-nal és a Sulfamethoxazole-lal kezelt minták helyezkedtek el, kivéve a 48-as számú mintát, amely a felső klaszterbe került a Trimethoprim tartalmú mintákkal együtt. Itt is feltételezhető, hogy a fehérjeösszetétel elkülönülése az antibiotikumra adott válasz alapján következik be, ugyanis a ZB1 törzs Ciprofloxacin-ra és Sulfamethoxazole-ra rezisztens, Trimethoprim-re pedig érzékenységet mutat (11.ábra).

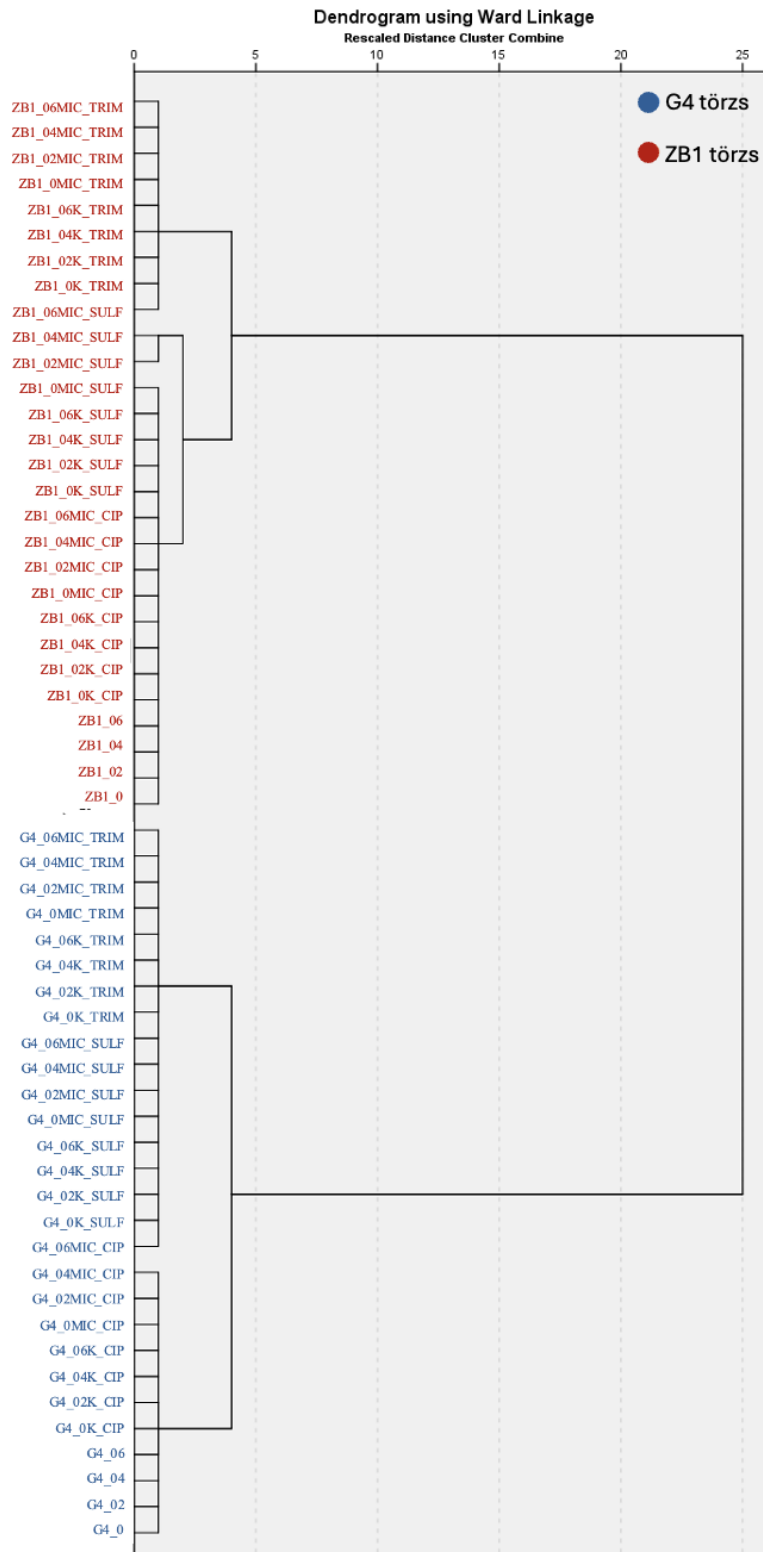
11. ábra: ZB1 törzs dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban (A kezelés számok részletes adatait az 1-es melléklet táblázata tartalmazza.)
(Forrás: saját szerkesztés)



A G4 és ZB1 törzsek együttes ábrázolása esetén a dendrogram alapján egyértelműen látszik, hogy a két főcsoport G4_06MIC_TRIM és ZB1_0 között válik el. Így ebben az esetben megállapítható, hogy ebben a mérési tartományban a két főcsoportra törzsek alapján válnak szét. Az ábrán az is megállapítható, hogy az antibiotikum kezelésektől faktoroként megjelennek, és további alcsoportokra osztják a két főcsoportot. A G4 törzsnél a kontroll és Ciprofloxacin esik egy alcsoportba, a másikban találhatóak a Sulfamethoxazole és Trimethoprim tartalmú minták, ZB1 törzsnél pedig a kontroll, a Ciprofloxacin és a Sulfamethoxazole esik az alsó alcsoportba, Trimethoprim pedig a felsőbe. A különböző kezeléseket kódokkal jelöltem. A kódban szerepel a törzs jelölése, valamint Ciprofloxacin (CIP), Sulfamethoxazole (SULF) vagy Trimethoprim

(TRIM) jelenléte, a környezeti (K)-, vagy MIC koncentráció jelölése, és a 0; 0,2; 0,4; vagy 0,6 kGy dózissal való kezelés (12.ábra).

12. ábra: G4 és ZB1 törzs együttes dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban
 (Törzsazonosító: G4; ZB1, antibiotikumok: CIP; SULF; TRIM, koncentráció jelölés: K; MIC,
 dózisok: 0; 0,2; 0,4; 0,6 kGy)
 (Forrás: saját szerkesztés)



5. Következtetés és javaslatok

A felélesztett, tejsavbaktérium törzsek kontroll, valamint antibiotikummal kezelt és ezt követően besugárzott kezelt telepei között nem tapasztaltam szignifikáns különbséget a feltisztulási zónák alakulásában. A feltisztulási zóna méretek a legtöbb esetben teljes átfedésben voltak. Kivételt képzett ez alól a G4-el jelölt törzs, amelynél a környezeti antibiotikum koncentrációval kezelt, majd különböző dózissal besugárzott minták esetében a Ciprofloxacinra adott érzékenység részben az átmeneti tartományba tolódott el. A ZB1 törzs esetében a Trimethoprim-Sulfamethoxazole iránti érzékenység enyhe növekedést mutatott. Eredményeim alapján feltételezhető, hogy a besugárzás alkalmazott dózisa (0,2–0,6 kGy) túl kicsik voltak ahhoz, hogy számottevő változást idézzenek elő.

A MIC érték meghatározásánál ZB1 törzsnél tapasztalt Sulfamethoxazole rezisztenciát magyarázhatja, hogy agardiffúziós tesztnél a Trimethoprim+Sulfamethoxazole korongra ugyan a ZB1 törzs érzékeny volt, de a MIC érték meghatározás eredményei alapján feltételezhetjük, hogy az adott törzs csak a Trimethoprim-ra érzékeny, ezért mutatott érzékenységet a kombinált antibiotikumra, és eltérő eredményt, amikor a két antibiotikumra külön-külön teszteltem.

A mikrobák tömegspektrumainak klaszteranalízise során azt tapasztaltam, hogy a leginkább elkülönülő eredmények az 5000-10000 m/z tartományban voltak megállapíthatók. Ebben a tömegspektrum tartományban az antibiotikum érzékenység alapján váltak szét a főcsoportok, a két törzs külön-külön történő ábrázolása során. A G4-es jelű törzs Ciprofloxacin-ra érzékeny, Trimethoprim-ra és Sulfamethoxazole-ra pedig rezisztens, a dendrogram is ezalapján vált ketté. A ZB1 törzs esetében Trimethoprim-tartalmú minták elkülönültek a Ciprofloxacin és Sulfamethoxazole tartalmú mintáktól, ami alátámasztja a MIC érték meghatározásánál tapasztalt Sulfamethoxazole rezisztenciát. Ez az eredmény is megerősíti azt a feltételezést, hogy a dendrogram főcsoportjai érzékenység-rezisztencia alapon válnak szét. Összességében elmondható, hogy bár az elvégzett vizsgálatok hasznos és értelmezhető eredményeket szolgáltatottak, a további kutatások során célszerű lenne a kísérletet magasabb besugárzási dózissal alkalmazásával megismételni. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy nagyobb γ -sugárdózisok hatására markánsabb biológiai változásokat eredményezne a tejsavbaktériumok antibiotikum-érzékenységében. Emellett javasolt lenne a kísérleteket további antibiotikumokkal is elvégezni, hogy egy minél átfogóbb képet kaphassunk az alkalmazott tejsavbaktérium törzsek antibiotikum rezisztenciájáról, illetve a sugárzás hatására bekövetkező rezisztenciában tapasztalható változásokról.

6. Összefoglalás

A tejsavbaktériumok bolygónk egyik legelterjedtebb mikroorganizmusai közé tartoznak. Szinte mindenhol megtalálhatóak az emberi szervezetben, az élelmiszerekben és a környezet számos helyein, így a szennyvizekben is. E sokrétű jelenlétük indokolja, hogy számos kutatás középpontjában állnak, különösen az alkalmazott mikrobiológia és környezetvédelem területén.

Kísérletemben a *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* baktériumfaj két törzsét (G4 és ZB1) vizsgáltam. Nagyenergiájú ionizáló sugárzás hatását, valamint antibiotikum rezisztenciát elemezve. Minden vizsgálatot három párhuzamos ismétlésszámmal végeztem, az eredmények megbízható alátámasztása érdekében.

Az agardiffúziós antibiotikum korongteszt tette lehetővé, hogy a tejsavbaktérium törzsek Ciprofloxacin-re és Trimethoprim+Sulfamethoxazole-ra adott érzékenységet meghatározzam. A besugárzást követően az agardiffúziós teszt szolgáltatja a végső eredményeket is, ezáltal volt vizsgálható a sugárzás hatása a törzsek érzékenységére. A G4 törzs Ciprofloxacin-re érzékeny, míg Trimethoprim+Sulfamethoxazole kezelésre rezisztens volt. ZB1 törzs esetében pont fordítva alakultak az eredmények. A MIC érték meghatározás is megerősítette ezeket az eredményeket, és feltárta, hogy a ZB1 törzs Sulfamethoxazole-ra rezisztens, a korongtesztnél tapasztalt érzékenység pedig a kombinált készítmény hatásának tudható be. A γ -sugárzással történő besugárzás hatásait több szinten is vizsgáltam, beleértve a fehérjeprofilok elemzését MALDI-TOF MS tömegspektrometriával. Eredményeim alapján a besugárzás nem okozott szignifikáns változást a vizsgált törzsek antibiotikum-érzékenységben. A klaszter vizsgálatok alapján megfigyelhető volt, hogy a két törzsön végzett kezelések külön-külön történő ábrázolásakor az egyes csoportok az antibiotikum-érzékenység alapján különültek el egymástól. Ezzel szemben, amikor a két törzs kezeléseit együttesen ábrázoltam, akkor az elkülönülés főcsoportjait a törzsek határozták meg.

Összességében a kísérlet hozzájárult az alkalmazott törzsek antibiotikum-érzékenységének-, a besugárzás hatásainak-, valamint a fehérjemintázatok alakulásának mélyebb megértéséhez. A kutatás eredményei hozzájárulnak a tejsavbaktériumok sugárzásra adott válaszainak jobb megismeréséhez, amely mind élelmiszeripari, mind környezetvédelmi szempontból releváns. A sugárzás mikrobiológiai hatásainak feltárása hosszú távon új lehetőségeket kínál a sterilizálási és fertőtlenítési technológiák, illetve a szennyvízkezelésben alkalmazott biológiai folyamatok optimalizálása terén. Eredményeim alapján a MALDI-TOF MS segítségével hatékonyan

vizsgálhatók a tejsavbaktériumok, amelyek átfogó képet biztosítanak a kísérletben végbemenő változásokról fehérjeszinten is. A módszer pontossága és gyorsasága tovább erősíti a technika alkalmazásának minél szélesebb körű elterjedését.

7. Irodalomjegyzék

- AbuAlRoos, N.J., Amin, N.A.B., Zainon, R. (2019) 'Conventional and new lead-free radiation shielding materials for radiation protection in nuclear medicine: A review', *Radiation Physics and Chemistry*, 165. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2019.108439>
- Almutairi, B.A., Almotawa, A.A., Almutairi, M.A.M., Baabbad, R.S., Abdullah, S.A.A., Alagedi, H.S.K., Aljaizani, E.A.H., Alahmar, M.A., Shabi, F.A.A., Alharbi, S.A., Alaboudi, I.S.A., Kaabi, A.A., Alghamdi, A.S.A. (2024) 'Ciprofloxacin: An Overview of Use, Mechanism of Action, and Adverse Effects', *Journal of Ecohumanism*, 3(8), pp. 9328–9336. Available at: <https://doi.org/10.62754/joe.v3i8.5546>
- Ayivi, R.D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S.O., Worku, M., Tahergorabi, R., Claro da Silva, R., Ibrahim, S.A. (2020) 'Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Application', *Dairy*, 1(3), pp. 202–232. Available at: <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
- Bhatia, S.S., Pillai, S.D. (2019) 'A Comparative Analysis of the Metabolomic Response of Electron Beam Inactivated E. coli O26:H11 and Salmonella Typhimurium ATCC 13311', *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 694. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00694>
- Campo, R.D., Bravo, D., Cantón, R., Ruiz-Garbajosa, P., García-Albiach, R., Montesi-Libois, A., Yuste, F.J., Abaira, V., Baquero, F. (2005) 'Scarce Evidence of Yoghurt Lactic Acid Bacteria in Human Feces after Daily Yoghurt Consumption by Health Volunteers', *Applied and Environmental Microbiology*. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.1.547-549.2005>
- Chandra, N., Kumar, S. (2017) 'Antibiotics Producing Soil Microorganisms', *Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Soils*, pp. 1-18. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-66260-2_1
- Chişescu, C.L., Ene, A., Geana, E.I., Vasile, A.M., Ciucure, C.T. (2021) 'Emerging and Persistent Pollutants in the Aquatic Ecosystems of the Lower Danube Basin and North West Black Sea Region – A Review', *Appl. Sci.*, 11(20). Available at: <https://doi.org/10.3390/app11209721>
- Croxatto, A., Prod'hom, G., Greub, G. (2012) 'Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology', *FEMS Microbiology Review*, 36(2), pp. 380-407. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00298.x>
- Fishberg, M., Machado, R. (2015) 'History of yoghurt and current patterns of consumption', *Nutrition Reviews*, 73, pp. 4–7. Available at: <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv020>
- Frieri, M., Kumar, K., Boutin, A. (2017) 'Antibiotic resistance', *Journal of Infection and Public Health*, 10(4), pp. 369–378. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007>
- Getoff, N. (1996) 'Radiation-induced degradation of water pollutants – State of the art', *Radiation Physics and Chemistry*, 47(4), pp. 581–593. Available at: [https://doi.org/10.1016/0969-806X\(95\)00059-7](https://doi.org/10.1016/0969-806X(95)00059-7)
- Grim, S.A., Rapp, R.P., Martin, C.A., Evans, M.E. (2005) 'Trimethoprim-Sulfamethoxazole as a Viable Treatment Option for Infections Caused by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus', *Pharmacotherapy*, 25(2), pp. 253–264. Available at: <https://doi.org/10.1592/phco.25.2.253.56956>
- Gupta, V., Garg, R. (2009) 'Probiotics', *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3), pp. 202–209. Available at: <https://doi.org/10.4103/0255-0857.53201>
- Györki, G. 'Kezelt szennyvíz újrafelhasználásának lehetőségei és kihívásai Magyarországon', *Hidrológiai Közöny*, 104(2). <https://doi.org/10.59258/hk.15659>
- Henze, M., Comeau, Y. (2008) 'Wastewater Characterization', *Biological Wastewater Treatment*, pp. 33–52. Available at: <https://books.google.hu/books?id=41JButufnm8C>

- Hutchings, M., Truman, A.W., Wilkinson, B. (2019) 'Antibiotics: past, present and future', *Current Opinion in Microbiology*, 51, pp. 72–80. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- Iyer, R., Tomar, S.K., Maheswari, T.U., Singh, R. (2010) 'Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria', *International Dairy Journal*, 20(3), pp. 133–141. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.10.005>
- Kawacka, I., Pietrzak, B., Schmidt, M., Olejnik-Schmidt, A. (2023) 'Listeria monocytogenes Isolates from Meat Products and Processing Environment in Poland Are Sensitive to Commonly Used Antibiotics, with Rare Cases of Reduced Sensitivity to Ciprofloxacin', *Life*, 13(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/life13030821>
- Kerek, Á., Nagy, Z., Jerzsele, Á. (2023) 'Egy egészség – a 21. század problémája az antimikrobiális rezisztencia: Van kiút?', *Scientia et Securitas*, 3(3), pp. 234–242. Available at: <https://doi.org/10.1556/112.2022.00115>
- Khubber, S., Marti-Quijal, F.J., Tomasevic, I., Remize, F., Barba, F.J. (2022) 'Lactic acid fermentation as a useful strategy to recover antimicrobial and antioxidant compounds from food and by-products', *Current Opinion in Food Science*, 43, pp. 189–198. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.013>
- Kim, J.M., Park, Y.J. (2018) 'Lactobacillus and Urine Microbiome in Association with Urinary Tract Infections and Bacterial Vaginosis', *Urogenital Tract Infection*, 13(1), pp. 7–13. Available at: <https://doi.org/10.14777/uti.2018.13.1.7>
- Koul, B., Yadav, D., Singh, S., Kumar, M., Song, M. (2022) 'Insights into the Domestic Wastewater Treatment (DWWT) Regimes: A Review', *Water*, 14(21). Available at: <https://doi.org/10.3390/w14213542>
- König, H., Berkelmann-Löhnertz, B. (2017) 'Maintenance of Wine-Associated Microorganisms', *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, pp. 549–571. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5_23
- König, H., Fröhlich, J. (2017) 'Lactic Acid Bacteria', *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, pp. 3–41. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5>
- Kutuzova, A., Dontsova, T., Kwapinski, W. (2021) 'Application of TiO₂-Based Photocatalysts to Antibiotics Degradation: Cases of Sulfamethoxazole, Trimethoprim and Ciprofloxacin', *Catalysts*, 11(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/catal11060728>
- Lajayer, B.A., Najafi, N., Moghiseh, E., Mosafiri, M., Hadian, J. (2019) 'Effects of gamma irradiation on physicochemical and biological characteristics of wastewater effluent and sludge', *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, pp. 1021–1034. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02410-7>
- Linares, D.M., O'Callaghan, T.F., O'Connor, P.M., Ross, R.P., Stanton, C. (2016) 'Streptococcus thermophilus APC151 Strain Is Suitable for the Manufacture of Naturally GABA-Enriched Bioactive Yoghurt', *Frontiers in Microbiology*, 7. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01876>
- Lorenz, P., Zinke, H. (2005) 'White biotechnology: differences in US and EU approaches?', *TRENDS in Biotechnology*, 23(12), pp. 570–574. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2005.10.003>
- O'Mahony, J.A., Fox, P.F. (2014) 'Chapter 2 – Milk: An Overview', *Milk Proteins* (Second edition), pp. 19–73. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405171-3.00002-7>
- Pawar, R., Zambare, V., Nabar, B. (2020) 'Competitive Assessment of Antibiotic Resistance in Lactic Acid Bacteria Isolated from Healthy Human Adult and Infant Feces', *Nepal Journal of Biotechnology*, 8(2). Available at: <https://doi.org/10.3126/njb.v8i2.31893>
- Qin, J., Fang, Y., Shi, J., Tokoro, C., Córdova-Udaeta, M., Oyama, K., Zhang, J. (2023) 'Waste-Based Ceramsite for the Efficient Removal of Ciprofloxacin in Aqueous Solutions',

- International Journal of Environmental Research and Public Health, 20(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/ijerph20065042>
- Rakshit, S., Sarkar, D., Elzinga, E.J., Punamiya, P., Datta, R. (2013) 'Mechanisms of ciprofloxacin removal by nano-sized magnetite', *Journal of Hazardous Materials*, 246–247, pp. 221–226. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.032>
- Siddique, F., Ahmad, S., Hussain, A., Firdous, N., Nisar, R., Bilal, M., Najam, A., Salik, A., Zia, M., Elkhedir, A.E. (2025) 'Development, physicochemical, and sensory analysis of moringa oleifera l. powder added buffalo milk yoghurt with pharmacological potential', *Scientific Reports*, 15. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-17428-w>
- Siezen, R.J., Wilson, G. (2009) 'Probiotics genomics', *Microbial Biotechnology*, 3(1), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2009.00159.x>
- Singhal, N., Kumar, M., Kanaujia, P.K., Viridi, J.S. (2015) 'MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis', *Frontiers in Microbiology*, 6. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791>
- Sköld, O.E., Swedberg, G. (2017) 'Sulfonamides and Trimethoprim', *Antimicrobial Drug Resistance*, pp. 345–358. Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-46718-4>
- Sousa, T., Paterson, R., Moore, V., Carlsson, A., Abrahamsson, B., Basit, A.W. (2008) 'The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs', *International Journal of Pharmaceutics*, 363(1–2), pp. 1–25. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.009>
- Spinks, J.W.T., Woods, R.J. (1990) *An Introduction to Radiation Chemistry* (3rd edition). New York: Wiley. Available at: <https://doi.org/10.1002/bbpc.19910950346>
- Thiebault, T. (2020) 'Sulfamethoxazole/Trimethoprim ratio as a new marker in raw wastewaters: A critical review', *Science of The Total Environment*, 715. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136916>
- Trchounian, A., Trchounian, K. (2019) 'Fermentation Revisited: How Do Microorganisms Survive Under Energy-Limited Conditions?', *Trends in Biochemical Sciences*, 44(5), pp. 391–400. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.12.009>
- Walter, J. (2008) 'Ecological Role of Lactobacilli in the Gastrointestinal Tract: Implications for Fundamental and Biomedical Research'. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.00753-08>
- Wang, J., Wang, S. (2018) 'Microbial degradation of sulfamethoxazole in the environment', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, pp. 3573–3582. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8845-4>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., Geng, W. (2021) 'Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry', *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Widyastuti, Y., Rohumatussolihat, Febrisiantosa, A. (2014) 'The Role of Lactic Acid Bacteria in Milk Fermentation', *Food and Nutrition Sciences*, 5(4). Available at: <https://doi.org/10.4236/fns.2014.54051>
- Witkin, S.S. (2018) 'Lactic acid alleviates stress: good for female genital tract homeostasis, bad for protection against malignancy', *Cell Stress and Chaperones*, 23(3), pp. 297–302. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12192-017-0852-3>
- Witkin, S.S., Mendes-Soares, H., Linhares, I.M., Jayaram, A., Ledger, W.J., Forney, L.J. (2013) 'Influence of Vaginal Bacteria and D- and L-Lactic Acid Isomers on Vaginal Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer: Implications for Protection against Upper Genital Tract Infections', *mBio*, 4(4). Available at: <https://doi.org/10.1128/mBio.00460-13>

- Woods, R.J., Pikaev, A.K. (1994) Applied Radiation Chemistry: Radiation Processing. New York: John Wiley & Sons. ISBN 0-471-54452-3. Available at: <https://www.wiley.com/en-us/Applied+Radiation+Chemistry%3A+Radiation+Processing-p-9780471544524>
- Wright, G.D. (2010) 'Q&A: Antibiotic resistance: where does it come from and what can we do about it?', BMC Biology, 8(123). Available at: <https://doi.org/10.1186/1741-7007-8-123>
- Zacharof, M.P., Lovitt, R. W. (2012) 'Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria – a Review Article', APCBEE Procedia, 2, pp. 50–56. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>

Rendelettek:

152/2009. (XI. 12.) FVM rendelet A Magyar Élelmiszerkönyv 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről. Available at: [MÉ 1-3/19-1 számú előírása a tejtermékekről](#)

Egyéb hivatkozás:

Bruker Daltonics 2016 microflex - Performance for Screening Applications on the Bench 6 p.

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

Ábrajegyzék

1. ábra: Mikroorganizmusok MALDI-TOF MS készített egyedi tömegspektrumai.....	16
2. ábra: Minták γ -sugárzással való kezelése	22
3. ábra: ZB1 (bal) és G4 (jobb) törzs Ciprofloxacinnal szembeni gátlási zónái.....	26
4. ábra: ZB1 (bal) és G4 (jobb) törzs gátlási zónái Trimethoprim-Sulfamethoxazole esetében	26
5. ábra: Ciprofloxacín (bal), Trimethoprim (közép) és Sulfamethoxazole (jobb) MIC érték meghatározás G4 törzs esetében	27
6. ábra: Ciprofloxacín (bal), Trimethoprim (közép) és Sulfamethoxazole (jobb) MIC érték meghatározás ZB1 törzs esetében	27
7. ábra: G4 törzs Ciprofloxacín agardiffúziós teszt 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve (balról jobbra).....	28
8. ábra: G4 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve (balról jobbra)	28
9. ábra: Ciprofloxacín gátlási zónák 0; 0,2; 0,4 és 0,6 kGy dózissal kezelt (balról jobbra) G4 törzs környezeti koncentrációnyi Ciprofloxacín jelenlétében.....	29
10. ábra: G4 törzs dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban (A kezelés számok részletes adatait az 1-es melléklet táblázata tartalmazza.)	32
11. ábra: ZB1 törzs dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban (A kezelés számok részletes adatait az 1-es melléklet táblázata tartalmazza.).....	33
12. ábra: G4 és ZB1 törzs együttes dendrogramja 5000-10000 m/z tartományban (Törzsazonosító: G4; ZB1, antibiotikumok: CIP; SULF; TRIM, koncentráció jelölés: K; MIC, dózisok: 0; 0,2; 0,4; 0,6 kGy).....	34

Táblázatjegyzék

1. táblázat: VWR [®] MRS (deMan, Rogosa and Sharpe) tápleves összetétele g/l tartományban	17
2. táblázat: ZB1, G4, T3, MILM2 és G5 törzs agardiffúziós tesztnél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacin (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében	25
3. táblázat: Besugárzott G4 törzs agardiffúziós tesztnél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacin (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében ..	28
4. táblázat: G4 törzs Ciprofloxacin agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett.....	29
5. táblázat: G4 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett.....	30
6. táblázat: Besugárzott ZB1 törzs agardiffúziós tesztnél mért gátlási zónák átmérőinek átlagai (mm) és szórásai Ciprofloxacin (CIP) és Trimethoprim-Sulfamethoxazole (SXT) esetében.....	30
7. táblázat: ZB1 törzs Ciprofloxacin agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett.....	31
8. táblázat: ZB1 törzs Trimethoprim-Sulfamethoxazole agardiffúziós teszt gátlási zónáinak átmérőinek átlagai (mm) és szórásai, 0; 0,2; 0,4; és 0,6 kGy dózissal kezelve, környezeti koncentrációjú Ciprofloxacin, Trimethoprim és Sulfamethoxazole mellett.....	31

9. Mellékletek

1.sz. melléklet

Sorszám	Kód	Sorszám	Kód
1	G4_0	29	ZB1_0
2	G4_02	30	ZB1_02
3	G4_04	31	ZB1_04
4	G4_06	32	ZB1_06
5	G4_0K_CIP	33	ZB1_0K_CIP
6	G4_02K_CIP	34	ZB1_02K_CIP
7	G4_04K_CIP	35	ZB1_04K_CIP
8	G4_06K_CIP	36	ZB1_06K_CIP
9	G4_0MIC_CIP	37	ZB1_0MIC_CIP
10	G4_02MIC_CIP	38	ZB1_02MIC_CIP
11	G4_04MIC_CIP	39	ZB1_04MIC_CIP
12	G4_06MIC_CIP	40	ZB1_06MIC_CIP
13	G4_0K_SULF	41	ZB1_0K_SULF
14	G4_02K_SULF	42	ZB1_02K_SULF
15	G4_04K_SULF	43	ZB1_04K_SULF
16	G4_06K_SULF	44	ZB1_06K_SULF
17	G4_0MIC_SULF	45	ZB1_0MIC_SULF
18	G4_02MIC_SULF	46	ZB1_02MIC_SULF
19	G4_04MIC_SULF	47	ZB1_04MIC_SULF
20	G4_06MIC_SULF	48	ZB1_06MIC_SULF
21	G4_0K_TRIM	49	ZB1_0K_TRIM
22	G4_02K_TRIM	50	ZB1_02K_TRIM
23	G4_04K_TRIM	51	ZB1_04K_TRIM
24	G4_06K_TRIM	52	ZB1_06K_TRIM
25	G4_0MIC_TRIM	53	ZB1_0MIC_TRIM
26	G4_02MIC_TRIM	54	ZB1_02MIC_TRIM
27	G4_04MIC_TRIM	55	ZB1_04MIC_TRIM
28	G4_06MIC_TRIM	56	ZB1_06MIC_TRIM

10. Hallgatói nyilatkozat

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Korányi Anikó
A Hallgató Neptun kódja: HTP8X5
A dolgozat címe: Nagyenergiájú ionizáló sugárzás hatása a *Streptococcus thermophilus* antibiotikumérzékenységére
A megjelenés éve: 2025
A konzulens intézetének neve: Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéna és -biztonság Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlant állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

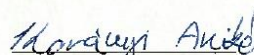
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budapest, 2025. november 3.


Hallgató aláírása

11. Konzulensi nyilatkozat


NYILATKOZAT

Korányi Anikó (hallgató Neptun azonosítója: HTP8X5) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: Budapest, 2025. november 3.



beiső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendó.

² A megfelelő aláhúzendó.

KÜLSŐ KONZULENSI NYILATKOZAT

Korányi Anikó (hallgató Neptun azonosítója: HTP8X5)

külső konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a hallgató az előre egyeztetett konzultációkon rendszeresen megjelent.

Kelt: Budapest, 2025 év október hó 30. nap

Dr. Homlok Renáta

____Dr. Homlok Renáta____
külső konzulens

12. Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata a mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Korányi Anikó
Neptun-kódja:	HTP8X5
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input checked="" type="checkbox"/> BSc/BA <input type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	ELTUD157N
A munka címe:	NAGYENERGIÁJÚ IONIZÁLÓ SUGÁRZÁS HATÁSA A <i>STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS</i> ANTIBIOTIKUMÉRZÉKENYSÉGÉRE

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve,	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

.....

.....

4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Budapest, 2025. november 3.

Kovács Anikó
.....
Hallgató aláírása

Kovács Tamás
.....
Konzulens/Témavezető aláírása