

DIPLOMADOLGOZAT

Kocsis Virág

2025



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
mesterképzési szak

Tejtermékekből izolált baktériumok antibiotikum rezisztenciájának feltérképezése

Belső konzulens:	Dr. Kiskó Gabriella, e. tanár Dr. Belák Ágnes, e. docens
Belső konzulens intézete/tanszéke:	Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszer-mikrobiológia, - higiénia és -biztonság Tanszék
Külső konzulens:	-
Készítette:	Kocsis Virág

Budapest

2025

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK.....	1
2.	SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	2
2.1.	Az antibiotikum rezisztencia problémája.....	2
2.2.	Élelmiszerekben előforduló antibiotikum rezisztencia problémája.....	5
2.3.	A fermentált tejtermékek és a bennük előforduló leggyakoribb mikroorganizmusok.....	7
2.3.1.	Fermentált tejtermékek és az előállításukhoz alkalmazható starterkultúrák.....	7
2.3.2.	Patogén és romlást okozó mikroorganizmusok.....	9
2.4.	Tejtermékekre/fermentált tejtermékekre jellemző antibiotikum rezisztencia.....	11
2.5.	Fermentált tejtermékekben előforduló baktériumok rezisztencia gén közvetítésének és felvételének módszerei.....	16
2.6.	Konjugációs és transzkonjugációs vizsgálati módszerek.....	19
2.7.	DNS-alapú módszer a mikrobák molekuláris biológiai jellemzésére.....	21
3.	ALKALMAZOTT MÓDSZEREK.....	23
3.1.	Vizsgálati minták.....	23
3.2.	Vizsgálati minták előkészítése.....	24
3.3.	Izolálási lépések, felhasznált tápközegek, anyagok.....	24
3.3.1.	Fermentált tejtermékek specifikus baktériumainak izolálása.....	24
3.3.2.	Tiszta tenyészet készítése és a mikroorganizmusok differenciálása.....	25
3.4.	Izolátumok azonosítása MALDI-TOF MS vizsgálattal.....	26
3.5.	Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat.....	27
3.6.	RAPD-PCR reakció.....	28
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	29
4.1.	A fermentált tejtermékekben előforduló mikroorganizmusok izolálása, jellemzése és azonosítása.....	29
4.2.	A tejtermékekből izolált baktériumok fenotípusos antibiotikum-rezisztenciája.....	36
4.3.	A molekuláris tipizálás eredménye.....	41
12.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	43
13.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	45
14.	IRODALOMJEGYZÉK.....	47
15.	ÁBRAJEGYZÉK.....	53
16.	TÁBLÁZATJEGYZÉK.....	54

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Napjaink egyik legösszetettebb globális közegészségügyi és élelmiszerbiztonsági problémája az antibiotikum-rezisztencia. A helytelen, illetve túlzott mértékű alkalmazásuk egyik következményeként rezisztens baktériumtörzsek jelenhetnek meg, melyek számos fertőzés kezelését megnehezítik, vagy akár ellehetetlenítik. A probléma a humán gyógyászaton és az állattenyésztésen kívül az élelmiszerlánc szintjéig is eljuthat. Így az élelmiszerek elfogyasztása után, a fogyasztók is közvetlenül érintetté válhatnak, ugyanis a rezisztenciagéneket hordozó baktériumok az élelmiszerekkel együtt bejuthatnak az emberi szervezetbe, és kölcsönhatásba léphetnek a bélmikrobiommal.

A fermentált tejtermékek, mint a joghurt, kefir vagy sajt, jelentős szerepet töltenek be az emberi táplálkozásban kiemelt egészségügyi előnyük miatt. Élő mikroorganizmusokat tartalmaznak, amelyek számos kedvező élettani hatásaik révén hozzájárulnak többek között a bélflóra egyensúlyának fenntartásához és az immunrendszer támogatásához. Ebből következik népszerűségük, melynek okán nagy mennyiségben fogyasztjuk őket. Azonban bejutva az emberi szervezetbe, akár potenciális rezisztenciagén-rezervoárként is működhetnek, ezért számos kutatásban vizsgálják a bennük megtalálható mikroorganizmusokat. Egyik gyakran kutatott terület az, hogy fermentáció során alkalmazott tejsavbaktériumok (például *Lactobacillus* nemzetség) hordozhatnak olyan rezisztenciagéneket, amelyek horizontális génátvitel révén – például konjugáció útján – más mikroorganizmusokra, köztük patogén baktériumokra is átterjedhetnek. Ez a jelenség az élelmiszerláncokon keresztül közvetett módon az emberi egészségre is veszélyt jelenthet. Mindezekből az következik, hogy az élelmiszer-eredetű mikroorganizmusok rezisztenciájának feltérképezése elengedhetetlen a megelőző intézkedések, és a biztonságos élelmiszer-előállítási folyamatoknak a kialakításához, megtervezéséhez.

Diplomamunkám célja a fermentált tejtermékekben előforduló mikroorganizmusok, különösen a tejsavbaktériumok izolálása, azonosítása és antibiotikum-rezisztenciájuk vizsgálata volt különböző mikrobiológiai kísérletek elvégzésével. Részletesebben, a kutatási témám célkitűzése a vizsgált törzsek fenotípusos antibiotikum-érzékenységének meghatározása, valamint annak feltárása volt, hogy a rezisztenciagének átadása lehetséges-e horizontális géntranszfer, ezen belül a transzkonjugációs folyamatok révén. A vizsgálat eredményei elősegíthetik a fermentált tejtermékekben előforduló mikroorganizmusok rezisztenciájának pontosabb megismerését, és hozzájárulhatnak a téma tudományos és élelmiszerbiztonsági vonatkozásainak mélyebb megértéséhez.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az antibiotikum rezisztencia problémája

Az antibiotikumokat, mint fertőzések gyógyításának csodaszereit, a penicillin 1920-as felfedezése óta tartják számon (Hou et al., 2023). Az említett gyógyszer 1940-es években igen széles körben elérhetővé válása olyan betegségek gyógyítását tette lehetővé, mint például a *Streptococcus* fertőzések, illetve hozzájárult a szepszis okozta életveszélyes állapotok csökkentéséhez (Klein et al., 2024).

Az antibiotikumok alkalmazásának fontos velejárója a gyakori fertőző betegségek globális terheinek csökkenése, azonban manapság egyre gyakrabban vitatott árnyoldala, hogy az antimikrobiális gyógyszerek széles körű használatával és a globális antibiotikum-fogyasztás folyamatos növekedésével az antimikrobiális rezisztencia (antimicrobial resistance, a továbbiakban AMR) növekvő tendenciája komoly veszélyt jelent a globális közegészségre nézve. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization, WHO) becslései azt jósolják, hogy 2050-re világszerte évente 10 millió ember halhat meg rezisztens bakteriális fertőzések következtében. Mindez visszafordítható lenne, ha az AMR növekedés jelenlegi tendenciája csökkenni kezdene (Hou et al., 2023).

Az AMR egy olyan jelenség, amikor a kórokozók – például baktériumok, vírusok, gombák és paraziták – ellenállóvá válnak az antimikrobiális szerekkel, köztük az antibiotikumokkal, antivirális, antifungális- és parazitaellenes készítményekkel szemben. Mindez világszerte súlyos közegészségügyi és gazdasági kihívást jelent, mivel az AMR hatása több ágazatot és országot is érint. Különösen aggasztó a többféle (vagy akár minden) terápiával szemben ellenálló baktériumok és gombák gyors globális terjedése, amelyek gyakori, nehezen kezelhető fertőzéseket okoznak (World Health Organization, 2023).

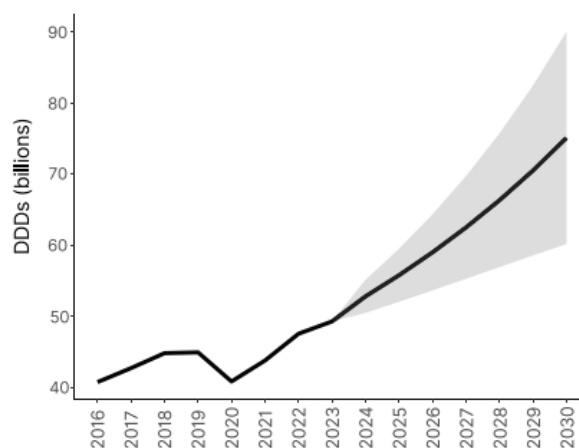
A rezisztenciának három fajtája ismeretes. A mikrobiológiai (vagy úgynevezett *in vitro*) rezisztencia esetén a baktériumok csökkent érzékenységet mutatnak egyes antibiotikumokkal szemben, mint amit az adott fajnál normálisnak tekintenénk. Ilyenkor a határérték fölött már ellenállónak számítanak, amit epidemiológiai rezisztenciának is hívnak. Az ilyen jelenség sokszor genetikai vizsgálatokkal is igazolható, például bizonyos antimikrobiális rezisztenciagének vagy meghatározott rezisztencia-mechanizmusok molekuláris kimutatásával.

Második a farmakológiai rezisztencia, ami farmakokinetikai paramétereken és egy adott baktériumfaj normál érzékenységén alapul. Ha az adott baktériumra vonatkozó antibiotikum minimális gátló koncentrációja (minimal inhibitory concentration, a továbbiakban MIC) az antimikrobiális szer által elérhető koncentráció tartományán belül van, akkor a baktérium

érzékeny. Azonban, ha az adott baktériumra vonatkozó antibiotikum MIC-értéke magasabb, mint a fertőzés helyén elérhető koncentráció, akkor a baktériumot rezisztensnek tekintik. Harmadik a klinikai rezisztencia (*in vivo* rezisztencia) amikor az adott baktériummal való fertőzést már nem lehet megfelelően kezelni, és a kezelés kudarcai egyértelműek (Verraes et al., 2013).

Alapul véve egy 2016-2023 között zajló vizsgálatot - melynek részletei lentebb fognak szerepelni - az 1. ábra mutatja az antibiotikum-fogyasztási rátát 2016-2030 között. A kutatás feltételezi, hogyha a jövőbeli fogyasztás az országokban a 2016-2023 közötti időszak tartományába fog esni és a politika nem változik, akkor az előrejelzések szerint a globális antibiotikum-fogyasztás az 1. ábra szerint fog alakulni. Az első ábrán szereplő adatok feltételezik, hogy az országok jövőbeli változási üteme, a 2016 és 2019 közötti összetett éves növekedési ütem és a 2020–2023 időszak üteme között lesz (Klein et al., 2024).

1. ábra: Az antibiotikum-fogyasztás átlagos várható változása 2023–2030 között (Forrás: Klein et al., 2024)



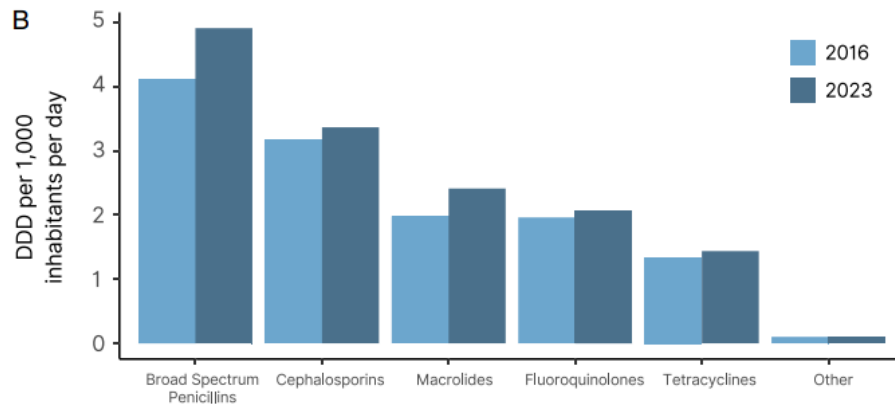
Az említett tanulmány elemzéséhez kapcsolódik összesen 67 adatokkal rendelkező országnak a Világbank (World Bank) által meghatározott jövedelmi csoportjainak átlagos antibiotikum-fogyasztási aránya napi adagra (defined daily doses, a továbbiakban DDD) vonatkoztatva 2016 és 2023 között. Úgy találták, hogy az antibiotikum-fogyasztás 2016 és 2023 között globálisan növekvő tendenciát mutatott, az adatokkal rendelkező országokban (67 darab) összességében 16,3 % -os emelkedés volt megfigyelhető a meghatározott napi adagra (DDD) vonatkoztatva, azonban a növekedés jelentős különbségeket mutatott a jövedelmi csoportok között. A 2019-ig tartó időszak azt mutatja, hogy a közepes jövedelmű országokban (MIC) a fogyasztás nőtt, míg a magas jövedelmű országokban (HIC) csökkent. A 2020-as években, a COVID-19 pandémia idején ugyan átmeneti visszaesés következett be, azonban a fogyasztás

ezt követően gyors ütemben helyreállt, és ismét növekedésnek indult. Összességében elmondható, hogy a vizsgált időszakban a járvány átmenetileg megszakította a növekedési trendet, azonban azt követően az antibiotikum-felhasználás gyorsabb ütemben emelkedett, mint a pandémiát megelőző időszakban (Klein et al., 2024).

Tehát, az antibiotikum rezisztencia egy olyan globális jelenség, mely világméretű problémát jelent a bakteriális eredetű patogenezisben. Ez magas morbiditást és mortalitást von maga után. Ez azt jelenti, hogy a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok rezisztenciát mutatnak bizonyos gyógyszerek használatakor, és ennek eredménye olyan fertőzések kialakulása lesz, mely a korábban bevált antimikrobás szerekkel nehezen vagy pedig egyáltalán nem kezelhetőek (Frieri et al., 2017).

Már említésre került, hogy a COVID-19 világjárvány befolyásolta az antibiotikum fogyasztás mennyiségét, azonban csekély hatása volt arra, hogy milyen típusú antibiotikumot fogyasztottak. Az adott osztályba tartozó antibiotikum fogyasztás DDD értékei a 2. ábrán láthatóak, naponta 1000 lakosra vetítve (Klein et al., 2024).

2. ábra: Az antibiotikumok fogyasztási különbségei (2016-2023 között). Az öt leggyakrabban fogyasztott antibiotikum-osztály (vízszintes tengely) esetében, az összes többi osztályt az „egyéb” kategóriába sorolva (Forrás: Klein et al., 2024)



A 2. ábrán feltüntetett antibiotikumok között a széles spektrumú penicillinek (broad-spectrum penicillins, a továbbiakban BSP), a cefalosporinok, a makrolidok, a fluorokinolonok és a tetraciklinek a legnagyobb fogyasztási arányú csoportok. Látszik, hogy a BSP-k használata a vizsgálati időszak alatt minden jövedelmi osztályban növekedést mutatott. Kiemelendő, hogy 2016-ról 2023-ra minden típus esetén növekedés figyelhető meg. A fejlődő országokban számos tényező hozzájárul az antibiotikumok fogyasztásának gyors növekedéséhez, például környezeti, politikai és kulturális tényezők. A legfontosabb tényező valószínűleg a gazdasági növekedés, ugyanis ahol az országok gazdasági növekedése figyelhető meg, ott fennáll a veszélye a nem megfelelő antibiotikum-használatnak, ami elősegítheti a rezisztencia

kialakulását. Ahhoz, hogy az AMR ne mutasson ekkora növekedést, a megelőzésre irányuló megfelelő intézkedések kiemelt szerepet kell, hogy kapjanak. Fontosak az ezekhez szükséges beruházások, valamint higiéniai és egészségügyi intézkedéseknek a javítása is. A helyes személyes higiéniai gyakorlatok széles körű bevezetése szintén döntő szerepet játszik a fertőző betegségek terhének jelentős csökkentésében (Klein et al., 2024).

2.2. Élelmiszerekben előforduló antibiotikum rezisztencia problémája

Az antibiotikum-maradvány jelenléte az élelmiszerekben komoly közegészségügyi kockázatot jelent, mivel hozzájárulhat az antibiotikum-rezisztens baktériumok emberre történő átviteléhez, valamint különféle toxikológiai és immunpatológiai hatásokhoz, például nefro- és hepatotoxicitás (Qamar et al., 2023). A terápiás dózisban alkalmazott antibiotikumok átmenetileg megváltoztathatják az emberi bélmikrobiota összetételét, valamint befolyásolhatják a gazdaszervezet immunrendszeri és anyagcsere-egészségét. Az említett súlyos következmények mellett az antibiotikumok takarmányban vagy élelmiszerekben jelen lévő kis dózisa, valamint a szubletális vagy szubterápiás mennyiségek szintén hozzájárulnak a rezisztencia és az antibiotikum-rezisztens baktériumok kialakulásához, mivel elősegítik a baktériumok genetikai és fenotípusos változékonyságát. Számos vizsgálat megerősíti az alacsony antibiotikum-expozíció és a rezisztencia kialakulása közötti összefüggést. A kutatások között tejre és tejtermékekre vonatkozó tanulmányok is megtalálhatók. Publikációk kimutatták, hogy az antibiotikum-rezisztens tejsavbaktérium izolátumok aránya meghaladja az 50 %-ot. A *Lactobacillus* fajok részletes elemzése például 58 %-os vankomicin-rezisztenciát mutatott. Egy tanulmány megerősítette, hogy az erjesztett élelmiszerekből és emberi forrásokból származó tejsavbaktérium törzsek jelentős fenotípusos rezisztenciát mutatnak a cefalosporinokkal, aminoglikozidokkal, kinolonokkal és glikopeptidekkel szemben, függetlenül eredetüktől. Ugyanakkor a *Lactobacillus* fajok széles köre érzékenynek bizonyult például az ampicillinre, eritromicinre, ami arra utal, hogy ezek az antibiotikumok továbbra is hatékonyan gátolják ezen baktériumokat. Ennek ellenére aggasztó tendenciát figyeltek meg a penicillinnel, eritromicinnel, klindamicinnel és tetraciklinnel szemben szerzett rezisztencia terjedésében, különösen olyan *Lactobacillus* fajok esetében, amelyek erjesztett tejből, probiotikumokból, erjesztett élelmiszerekből vagy az emberi bélből származnak (Kiskó et al., 2025).

Az Európai Unió szabályozása szerint az állatgyógyászatban széles körben alkalmazott tetraciklin és származékai húsban és tejben legfeljebb 100 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$ vagy $\mu\text{g}/\text{l}$) maradékanyag-határértékkel engedélyezettek. Ezen témában született vizsgálat során 22 nyers

marhahús- és 22 tejmintában határértéket meghaladó tetraciklin-maradványokat mutattak ki, ami arra utal, hogy az élelmiszer-termelők nem minden esetben tartják be a gyógyszer-élelmezés-egészségügyi várakozási időket. Ennek következtében az antibiotikum-maradványok jelenléte továbbra is gyakori az állati eredetű élelmiszerekben, ami elősegítheti az antimikrobiális rezisztencia kialakulását és terjedését. A kísérlet részeként antimikrobiális érzékenységi vizsgálatot (Antimicrobial Susceptibility Testing, AST) is végeztek, mely során a tesztelt antibiotikumok közé tartozott többek között például az ampicillin, tetraciklin, trimetoprim/szulfametoxazol, penicillin, gentamicin, eritromicin és vankomicin. Úgy találták, hogy tejmintából izolált *E. coli* törzsek rezisztensek voltak az ampicillinre, a gentamicinre, a ciprofloxacinnra és a tetraciklinre (ebben a sorrendben, a legnagyobb ampicillin-rezisztenciával). A tetraciklinek széles spektrumú hatásuk miatt mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív baktériumok ellen hatékonyak, ezért gyakori alkalmazásuk az állattenyésztésben, növekedésserkentőként és különböző fertőzések kezelésére, hozzájárulhat a rezisztens baktériumtörzsek kialakulásához (Qamar et al., 2023).

Az antibiotikum-rezisztens baktériumok tehát élelmiszerekből is terjedhetnek. A bakteriális rezisztencia számos módon kialakulhat, a gyógyszerek célhelyeinek megváltoztatásával, a membrán permeabilitásának csökkenésével, a gyógyszerek aktív kiáramlásával, külső tényezőkkel, valamint az antimikrobiális szer inaktiválásával is. Mind az állati, mind az emberi kórokozók antibiotikum-rezisztencia gének (Antibiotic Resistance Genes, ARGs) donoraiként szolgálhatnak az embereket megfertőző kórokozók számára (Kiskó et al., 2025).

Az élelmiszerek előállítása, forgalmazása, tárolása során, valamint a gyomorban és a béltraktusban a mikrobás sejtek számos akadállyal találkoznak, mint például a szuboptimális pH-érték és hőmérséklet vagy sókoncentráció, az epesavak hatása, valamint az antimikrobiális vegyületek, például bakteriocinek és fertőtlenítőszer-maradványok jelenléte. Ezen stresszfaktorok megváltoztathatják a mikrobás sejteket, befolyásolva a sejt folyamatokat és a rezisztenciát. A rezisztencia módosulása a stresszválasz és az antibiotikumokkal szembeni rezisztencia molekuláris mechanizmusainak kombinációjából eredhet. Az élelmiszerláncban jelenlévő stresszorok a génexpresszió megváltoztatásán keresztül hatással lehetnek a starterkultúrák antibiotikum-rezisztenciájára is. Noha kevés kutatás vizsgálja a stressz hatását a tejsavbaktériumok antibiotikum-rezisztenciájára, egyes eredmények szerint a sav- és epehatás eltérően befolyásolja a *Lactobacillus* törzsek érzékenységét: bizonyos esetekben növeli, máskor csökkenti a rezisztenciát, a stressz típusától, a baktériumtól és az antibiotikumtól függően. Az erjesztett élelmiszerek jelentős mennyiségű tejsavbaktériumot (Lactic acid bacteria,

továbbiakban LAB) tartalmaznak, amelyek bár általában biztonságosnak tekinthetők, potenciálisan hordozhatnak antibiotikum-rezisztenciagéneket. E törzsek képesek kolonizálni a bélrendszert, és elősegíthetik a rezisztenciagének horizontális átvitelét a táplálékláncban jelen lévő kommenzális és patogén baktériumok között, ezért az antibiotikum-rezisztencia gének lehetséges „rezervoárjainak” tekinthetők (Kiskó et al., 2025).

2.3. A fermentált tejtermékek és a bennük előforduló leggyakoribb mikroorganizmusok

2.3.1. Fermentált tejtermékek és az előállításukhoz alkalmazható starterkultúrák

A fermentáció egy olyan anaerob katabolizmus, mely során az élelmiszerben előforduló szénhidrátokat mikroorganizmusok lebontják. Az így kapott fermentált termékek olyan élelmiszerek, melyek ellenőrzött, kívánt mikrobiális növekedés, enzimikus átalakulás során készülnek (Bintsis és Papademas, 2022). Azonban mik is azok az erjesztett vagy másnéven fermentált tejtermékek, és milyen előnyökkel bírnak? Az erjesztett tejtermékek magas probiotikum-tartalmúak, melyek jótékonyak befolyásolják a bélmikrobiomot, többek között a rövid szénláncú zsírsavak – például az acetát, propionát és butirát – termelésének fokozásához járulnak hozzá. A probiotikumok élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben fogyasztva kedvező élettani hatásokat fejtenek ki. Leggyakrabban a *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* és *Streptococcus* nemzetségbe tartozó baktériumok, valamint a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőgomba tartozik közéjük, melyek gyakran jelen vannak ezen élelmiszerekben, különösen a joghurtban és a kefirben (Mukarromah et al., 2025).

A fermentációt tartják az egyik legrégebbi konzerválási módszernek, amelyet az emberiség alkalmaz. Az első véletlenszerűen előállított fermentált tejtermékek előállításának pontos idejét nehéz megállapítani, akár 10 000–15 000 évvel ezelőttig is visszanyúlhat. Ide tartozik például a savanyú tej, joghurt és a sajt. Pozitívumként nem csak a jobb eltarthatóságot tartják számon, hanem jobb tápértékük miatt fejlődtek tovább, és nyerték el különleges jelentőségüket (Bintsis és Papademas, 2022). Az erjesztett termékek szerves savakat (tejsav, ecetsav), vitaminokat (pl. folsav), különböző aromás vegyületeket (pl. alkoholok), exopoliszacharidokat (exopolisaccharides, EPS) és bakteriocineket (pl. nizin) tartalmaznak. A laktobacillusz törzsek például képesek lebontani a kazeint, mely által csökkenteni tudják a tejtermékek allergizáló hatását, miközben javítják a fehérjék emészthetőségét is, növelve a tápértékét az élelmiszer-fehérjéknek (Xie et al., 2024).

A mikrobiális heterogenitásból fakadóan számos mikroorganizmus különleges, funkcionális tulajdonságokat biztosított ezen termékcsoporthoz, melyek egészségügyi előnyökkel bírnak (Bintsis és Papademas, 2022). A tejtermékek, a bennük lévő élő baktérium- és élesztőtartalom miatt, az élelmiszer-eredetű mikrobák egyik legfontosabb forrásának tekinthetők. Ezen mikroorganizmusok egy összetett konzorciumot képviselnek, amelyet a környezeti eredetű mikrobiális törzsek tekintetében nagyfokú biodiverzitás jellemez (Zinno et al., 2022).

Azonban az ipari gyártású fermentált tejtermékeknél ez a fajta mikrobiális sokféleség hiányozhat. Ezért új starter- és kiegészítő kultúrákat fejlesztettek ki, és tovább fejlesztik a meglévőket, azon célból, hogy helyreállítsák a hőkezelés és az aszeptikus tartósítási technikák által elvesztett sokféleség egy részét, és ezáltal új, jobb minőségű termékeket állítsanak elő (Bintsis és Papademas, 2022).

A Codex Alimentarius CXS 243-2003 publikált sztenderdjében foglaltak szerint a fermentált tejtermékekben termékcsoporthozként eltérő mikroorganizmusok vannak, melyeknek az eltarthatósági idő végéig életképesnek, aktívnak és elengedő mennyiségűnek kell lenniük. A starterkultúrát képező mikrobák összessége legalább 10^7 tke/g kell legyen, de ha a címkén feltüntetik, hogy kiegészítésként specifikus mikroorganizmust adtak hozzá, akkor ezeknek legalább 10^6 tke/g-nak kell lennie; a kefir és a kumisz élesztőinek összesen pedig legalább 10^4 tke/g-nak. Termékkategórián belüli termékcsoporthozként eltérő mikroorganizmusokat alkalmaznak (Codex Alimentarius Commission, 2018).

Erjesztett tejtermékekben, valamint húsokban a *Lactobacillus* nemzetség a tejsavbaktériumok legnagyobb csoportja, és valószínűleg a legelterjedtebb probiotikumként használt baktériumnemzetség különféle élelmiszerekben (Gueimonde et al., 2013).

A joghurtok esetén a szimbiotikus starterkultúrák a *Streptococcus thermophilus* és a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. A kefir kefir „magokból” előállított starterkultúra. A *Lentilactobacillus kefiri*, a *Leuconostoc*, *Lactococcus* és *Acetobacter* nemzetségbe tartozó fajok, erős és specifikus kapcsolatban állnak a kefirrel. A kumiszhoz a *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* és *Kluyveromyces marxianus* köthetőek (Codex Alimentarius Commission, 2018).

A tejsavbaktériumok mindenütt jelen vannak a természetben, beleértve a talajt, a vizet, tejtermékeket, húsokat és zöldségeket, valamint az emberek és állatok bélrendszerét is (Li et al., 2024). Taxonómiaiilag változatos Gram-pozitív, kataláz-negatív mikroorganizmusok csoportját alkotják, képesek a cukrokat tejsavvá erjeszteni. Aerotoleráns, anaerob baktériumok révén széles körben elterjedtek számos különböző környezetben. Az elmúlt két évtizedben a probiotikus LAB fokozott fogyasztásával járó egészségjavító tulajdonságok egyre nagyobb

figyelmet kapnak (Toomey et al., 2009). Tehát ezen csoport közös jellemzője a tejsav termelése a szénhidrát katabolizmus folyamata révén. Először 1857-ben Pasteur állított elő belőle tiszta tenyészetet, amit Lister a későbbiekben *Lactococcus lactis* néven osztályozott. Ez volt tudományos kutatásának kezdete. Orla-Jensen az 1900-as évek elején publikált egy monográfiát és alapozta meg ezáltal a LAB-ok osztályozását (Li et al., 2024).

2.3.2. Patogén és romlást okozó mikroorganizmusok

Az erjesztett tejtermékek (például joghurt) eltarthatóságának meghosszabbítására többféle módszer létezik. Ilyen többek között a hűtés. Ezeknek a termékeknek a hűtött állapotban való eltarthatósága számos tényezőtől függ, akár a tárolási hőmérséklettől vagy pedig a romlást okozó vagy patogén mikroorganizmusok jelenlététől (Ortiz-Rivera et al., 2017). A nyers (nem pasztörözött) tej számos kórokozó baktériumot tartalmazhat, amelyek betegségeket okozhatnak, ha nem inaktiválják azokat. A betegség két fő mechanizmus révén alakulhat ki: a szervezet fertőzése vagy a termelt toxin elfogyasztása révén. Példának okáért a *Listeria monocytogenes* és az *E. coli* O157:H7 törzse, valamint más Shiga-toxin termelő *E. coli* (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, STEC) törzsek jelentős klinikai tüneteket okozhatnak, például veseelégtelenséget (Fernández et al., 2015). Az elmúlt években jelentős számú, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. és *Listeria monocytogenes* által okozott, tejtermékekből kiinduló élelmiszer-eredetű megbetegedést rögzítettek. Tartósítószer, mint például a benzooesav vagy szorbinsav és ezek sói megakadályoznák a káros mikroorganizmusok szaporodását, azonban fogyasztói oldalról egyre nagyobb elvárás a tartósítószer eltarthatósági idő növelésében való felhasználásának kerülése. Ezért egyre nagyobb a kereslet az olyan élelmiszerek iránt, amelyek csak a legszükségesebb feldolgozási lépések alkalmazásával készülnek, mellőzve az értékes tápanyag komponensek roncsolását, vagy a (főként mesterséges) tartósítószer alkalmazását. Erre nyújt alternatívát a biológiai tartósítás (például a mikrobák segítségével elvégzett fermentáció), vagy akár a biológiai kontroll. Ezen folyamatokban nagyon gyakran a tejsavbaktériumok dominálnak. A tejsavbaktériumok, mint biológiai tartósítók olyan anyagokat szintetizálnak, amelyek gátolják a nemkívánatos mikroorganizmusok szaporodását. Például a *Lb. reuteri* által szintetizált széles spektrumú antimikrobiális szerre, a reuterinre, az *E. coli* DH5 α törzse szenzitivitást mutat, de a *P. expansum* reagált a legérzékenyebben a kutatások során (Ortiz-Rivera et al., 2017).

A tejsavbaktériumok közül a tejben leggyakrabban előforduló baktériumok a *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* és *Lactococcus* nemzetségekbe tartoznak. A legvitatottabb LAB – csoport az *Enterococcus*-ok, a vizsgált törzstől függően

starterkultúráként, probiotikumként, romlást okozó vagy patogén organizmusként is működhetnek. Hasonlóan igaz ez a *Streptococcus*-okra; habár ezen nemzetség sok tagja patogén, a *Streptococcus thermophilus* termofil LAB (széles körben starterkultúráként használt) „GRAS” (Generally Recognised as Safe) státusszal rendelkezik. A tejtermékekben előforduló nemkívánatos mikroorganizmusok közé tartoznak például a *Clostridium* nemzetségbe tartozó mikroorganizmusok, mint például a *Clostridium butyricum*, amely a sajt késői puffadásának fő felelőse (Fernández et al., 2015).

Az élelmiszer-eredetű megbetegedések közé tartoznak mind a mérgezések, mind a fertőzések. A mérgezéseket olyan baktériumok okozzák, amelyek az élelmiszerekben elszaporodva toxinokat termelnek. Ilyen például a *Staphylococcus aureus* és a spórképző *Clostridium botulinum*. A *S. aureus* által termelt enterotoxin lenyelése hányást és rosszulletet vált ki, míg a *C. botulinum* által termelt botulinum toxin súlyos bénulást, akár halálos kimenetelű mérgezést is okozhat. Ezzel szemben az élelmiszer-eredetű fertőzések esetén a kórokozó maga jut be a szervezetbe, és ott szaporodik el. Ilyen fertőzést okozhat a *Listeria monocytogenes*, amely liszteriózist idéz elő. További példaként említve, a *Salmonella* fajok által okozott szalmonellózis általában hasmenéssel jár, míg a *Brucella* nemzetség baktériumai brucellózist okoznak, amely szisztémás fertőzés, jellemző tünetei a láz és izomfájdalom (Fernández et al., 2015).

A fentiekben említett Gram-pozitív baktériumokon túl a Gram-negatív baktériumok, főként az enterobaktériumok szennyező jelenléte is meglehetősen gyakori a tejtermékekben, néha elérve a 10^6 - 10^7 tke/g szintet, mely érzékszervi minőségi romláshoz vezethet. Néhány termék esetében a szennyező Gram-negatív baktériumok a rossz higiénia jelzőjeként ismeretesek, és egészségügyi kockázatot jelenthet a termékben való előfordulásuk. Ide tartoznak például az *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* fajok, valamint az *Enterobacter*, *Proteus* és *Serratia* nemzetségekbe tartozó baktériumok is (Fernández et al., 2015).

Lényeges szót ejteni az emberben és állatban is előforduló *Escherichia coli*-ről, mely kommenzális baktériumnak tekinthető. Patogén törzsei felelősek a bélrendszerben és ehhez kapcsolódó területekben, kialakult fertőzésekért, mint a gasztoenteritisz, meningitisz, szepszis és húgyúti fertőzések. Az *Enterobacteriaceae* család tagjai által termelt, rezisztenciában részt vevő enzimek körülbelül 400 típusa ismert. A CTX-M béta-laktamáz típusok száma növekszik, előfordulásuk pedig jelentős olyan gyakran izolált baktériumban, mint az *E. coli*. A CTX-M-béta-laktamázok plazmidon kódoltak, és képesek hidrolizálni a cefotaximot és a ceftazidimet. A széles spektrumú béta-laktamáz (Extended-Spectrum β -Lactamase, a továbbiakban ESBL) enzimek termelése az egyik leggyakoribb rezisztencia-mechanizmus (Rehman et al., 2020). Az

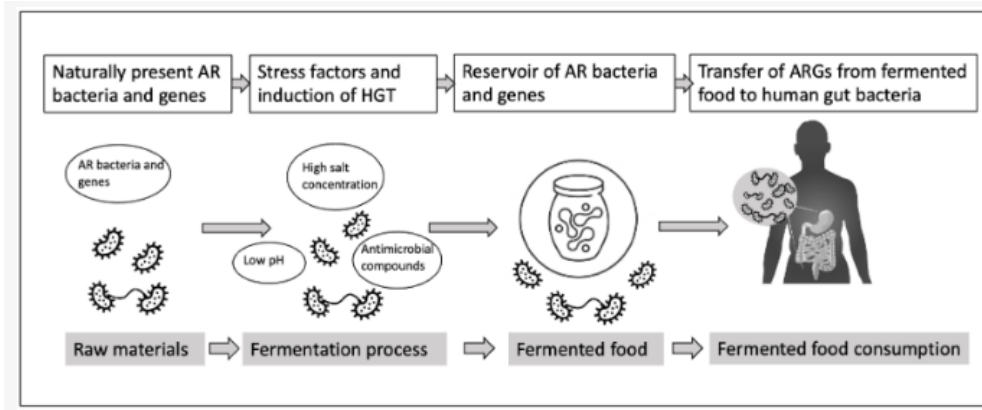
EFSA BIOHAZ Panel megállapítása szerint az ESBL enzimek olyan, plazmidon kódolt β -laktamázok, amelyek főként az *Enterobacteriaceae* család tagjaiban – különösen az *Escherichia coli* és a *Klebsiella pneumoniae* törzsekben – fordulnak elő. Ezek az enzimek széles spektrumú rezisztenciát biztosítanak számos β -laktám antibiotikummal szemben, beleértve a penicillineket, valamint a második, harmadik és negyedik generációs cefalosporinokat és a monobaktámokat (pl. aztreonam), ugyanakkor általában nem inaktiválják a karbapenemeket és a cefamicineket (pl. cefoxitin) (EFSA Panel on Biological Hazards, 2011). Ezen ESBL enzimek előfordulása a patogén baktérium törzsekben sajnos magas halálozással járó fertőzéseket okoz (Rehman et al., 2020).

A megelőzés tehát kiemelt jelentőségű. Jelentős, hogy patogénmentes tejet használjanak a feldolgozás során, továbbá a rekontamináció megakadályozása is hangsúlyozottan fontos. A pasztörözés a mikrobiális szennyezettségtől mentes tejtermék előállításához használt alapvető technika. Sajtok esetében a minimum 60 napig tartó érlelés is egy alternatív pasztörözési technikának tekinthető. Számos egyéb technika ismeretes (például pulzáló elektromos térerő (PEF)), melyek alkalmasak ezen termékeket élelmiszerbiztonsági szempontból megfelelővé tenni (Fernández et al., 2015).

2.4. Tejtermékekre/fermentált tejtermékekre jellemző antibiotikum rezisztencia

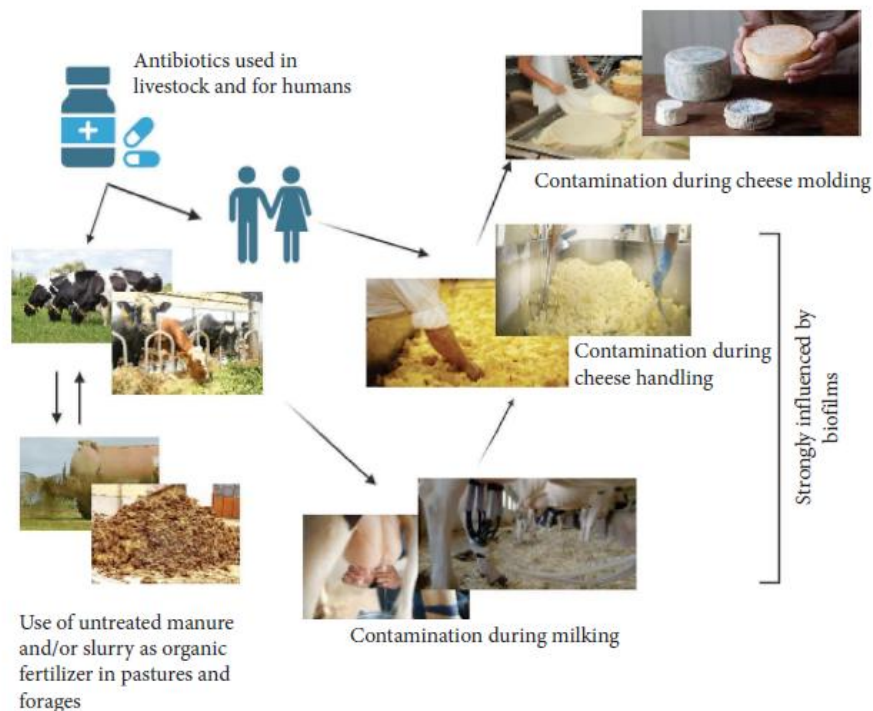
A fermentált élelmiszerek, melyek évszázadok óta szerves részét képezik a globális étrendnek, az antibiotikum-rezisztens baktériumok és gének jelenléte kapcsán egyre nagyobb aggodalomra adnak okot. Tanulmányok adnak bizonyosságot az AR baktériumok és gének jelenlétéről különböző típusú feldolgozatlan termékekben. A fermentált élelmiszerekben gyakran megtalálható tejsavbaktériumok szerepet játszhatnak az antimikrobiális rezisztencia terjedésében azáltal, hogy elősegítik a rezisztenciagének (antibiotic-resistance gene, ARG-k) horizontális génátvitelét (horizontal gene transfer, HGT) a természetes mikrobióta és a potenciális kórokozók között, melyet a 3. ábra szemléltet (Vinayamohan et al., 2023).

3. ábra: A fermentált élelmiszerekben előforduló AR baktériumok és gének emberi bélmikrobiótába való átvitele (*Forrás: Vinayamohan et al., 2023*)



Az élelmiszerek sokféleképpen szennyeződhetnek antimikrobiális rezisztenciát hordozó baktériumokkal és/vagy antimikrobiális rezisztencia génekkel: állati termékek például a vágás, növényi termékek a termelés során akár szennyezett öntözővízzel (Verraes et al 2013). Nagyrészt figyelmen kívül hagyott forrása az antibiotikum-rezisztencia gének terjedésének a szokásos mezőgazdasági gyakorlatokhoz kapcsolódik, mely az említett öntözést, a legeltetést, a silózást, a takarmánygyártást, valamint a mezőgazdasági szennyvíz vagy állati trágya felhasználását foglalja magában. A 4. ábra szemlélteti a baktériumok és antimikrobiális anyagok bejutási útvonalát a sajtgyártási környezetbe. A kezeletlen állati trágya szerves trágyaként történő felhasználása révén az antibiotikum-maradványok és rezisztens mikroorganizmusok a legelőkön és takarmányokon keresztül visszajuthatnak az állatok szervezetébe, majd a tejbe. A fertőzés tovább terjedhet a fejes, a sajtkezelés és a formázás során, ahol a biofilmek kialakulása szintén elősegíti a mikrobiális és antimikrobiális szennyeződést. Tehát a sajt nem megfelelő kezelése, a rossz higiéniai körülmények okán a szennyezett felületről/dolgozókról rezisztens baktériumok kerülhetnek át a termékre (Chaves et al, 2024).

4. ábra: Az antimikrobiális és bakteriális szennyeződés lehetséges útvonalai a sajtgyártás technológiai folyamatában, az állattenyésztéstől a feldolgozásig (Forrás: Chaves et al., 2024)



Amikor az élelmiszer a környezetből szennyeződik feldolgozás után, akkor utószennyeződésről beszélünk, de szennyeződhetnek más élelmiszerekből származó antimikrobiális rezisztens baktériumokkal és/vagy antimikrobiális rezisztencia génekkel a fogyasztó általi élelmiszerkezelés során. Utóbbit keresztszennyeződésnek nevezzük (Verraes et al., 2013). A mikroorganizmusok fermentációban történő használata is bejuttathatja az ARG-eket az élelmiszerláncba. 2012-ben foglalkozott ezzel az aggodalommal az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (European Food Safety Authority, továbbiakban EFSA), amikor is iránymutatásokat adott ki a starterkultúrákban rejlő kockázatok csökkentésére (Chaves et al., 2024). Az EFSA által bevezetett élelmiszerláncban felhasznált mikrobákra vonatkozó biztonsági értékelési eljárás (Qualified Presumption of Safety, QPS) értelmében a QPS-státusz odaítélése előtt meg kell határozni, hogy a vizsgált mikroorganizmus milyen típusú antibiotikum-rezisztencia-determinánsokat hordoz. Ennek alapján az antibiotikum-rezisztencia önmagában nem tekinthető biztonsági kockázatnak, csak abban az esetben, ha igazolható a rezisztencia gén(ek) átadásának lehetősége más szervezetek felé. Ezen listán szereplő baktériumok fogyasztása következtében fellépő káros hatások nagyon ritkák. Mivel a legtöbb probiotikus mikroorganizmus az emberi bélrendszer természetes lakója, és jelentős mennyiségben kerül fogyasztásra funkcionális élelmiszerek révén, genomjaikban az

antibiotikum-rezisztencia-determinánsok jelenlétét rendszeresen és szisztematikusan vizsgálni szükséges a biztonságos felhasználás biztosítása érdekében (Gueimonde et al., 2013).

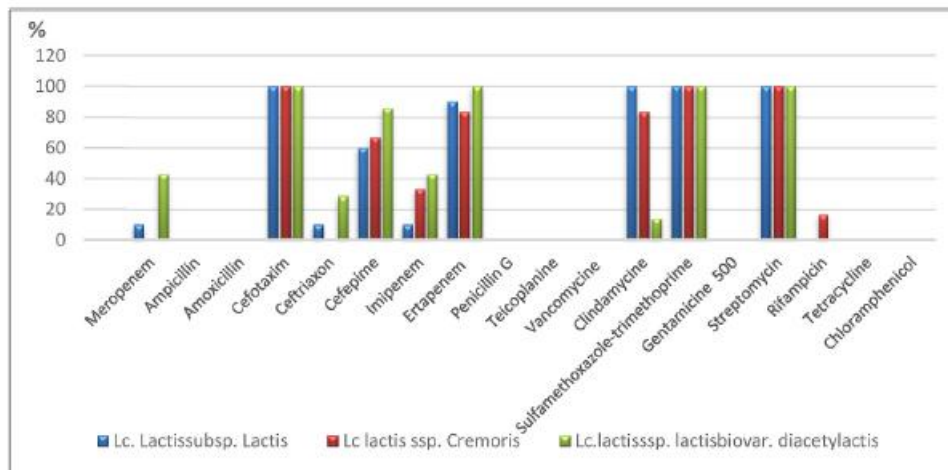
Az élelmiszeripari feldolgozás során a tejtermékek esetén a pasztörözés szokásosan bevett módszer, de nem garantálja a spórák teljes eltávolítását. Ezenkívül a nyers tej beszerzése, az erjesztési folyamat, valamint a szállítás és tárolás során a környezetből történő szennyeződés, a tejtermékek egyik csoportjában, a joghurtban található opportunista kórokozók fő forrásai (Qu et al., 2024). Érdekesség, hogy egy 2024-ben bemutatott tanulmányban Kínából begyűjtött mintákon végzett vizsgálat megerősítette, hogy a feldolgozási procedúra jelentősen befolyásolja a bakteriális közösség eloszlását a joghurtban. Az erről készült tanulmányban beszámoltak arról, hogy például az *Acetobacter* (aerob, Gram-negatív baktérium) potenciális veszélyt jelenthet az élelmiszerekben, mivel képesek hordozni különböző ARG-t (Qu et al., 2024). Az antibiotikumok és más gyógyszerek széles körű használata az állattenyésztésben gyógyszerrezisztens törzsek megjelenéséhez vezetett, amelyet tovább súlyosbít az antibiotikum-rezisztens gének horizontális génátvitel a baktériumok között. A több gyógyszerre rezisztens törzsek megjelenése egyre nehezebbé teszi a klinikai kezelést, és az AMR-t ma már a harmadik vezető halálókként azonosítják világszerte (Murray et al., 2022).

Számos kórházban használnak széles spektrumú antibiotikumot, szabadon és többnyire feleslegesen. Így tehát a rossz gyakorlattal kombinálva jelentős növekedés figyelhető meg az új rezisztenciák terén. A rezisztens baktériumok átterjedhetnek más személyekre, környezetre is; mindezt epidemiológiai adatok bizonyítják. A több gyógyszerre is rezisztensek (multidrog rezisztens, MDR) száma riasztó ütemben növekszik, ezzel globális fenyegetéssé válva (Rehman et al., 2020). A rezisztenciáért felelős gének származhatnak a baktériumok közötti horizontális génátvitelből, vagy a baktériumoknak az evolúció során kialakult rezisztencia mechanizmusainak eredményeiből (Qu et al., 2024). Az antibiotikum-rezisztenciát tekintve egyes laktobacillusok vankomicin-rezisztens fenotípusa talán a legjobban jellemzett belső rezisztencia, mely sejtfalstruktúrájukból és peptidoglikán-összetételükből adódik (Gueimonde et al., 2013).

Ezen témában egy tanulmány keretében fenotípusos antibiotikum-rezisztencia tesztet végeztek LAB-ok csoportján belül a *Lactococcus lactis* törzsek esetén, mely számos antibakteriális vegyületet termel. A baktériumot nyers tehéntejből izolálták. A tesztet abból a célból végezték, hogy garantálják a LAB élelmiszeripari felhasználásnak biztonságosságát. Mindez azért fontos, hogy a probiotikus törzsek kiválasztásánál ne jelentsen kockázatot a szerzett antibiotikum rezisztencia. A baktérium törzsek érzékenységét húsz antibiotikummal szemben vizsgálták, példaként említve a penicillin G (P1), vankomicin (VA 30), gentamicin 30

(GN 30), Streptomycin (S 300), Tetracycline (TE 30) és Chloramphenicol (C 30). A vizsgálat során először beállították a törzsek szuszpenzióit 0,5 McFarland sűrűségűre, majd tamponos technikával MRS agarra oltották, rátéve az antibiotikum-korongokat, majd 37 °C-os inkubálást követően 24 óra elteltével megnézték a korongok körüli zónák átmérőjét. A rezisztencia százalékos eredményeit az 5. ábra mutatja a különböző *Lactococcus lactis* törzsek esetén. Jól látszik, hogy ahol nem látunk oszlopot, abban az esetben érzékenyek voltak az adott antibiotikum típusra. A tanulmányban leírták, hogy ezek az eredmények összhangban vannak más eredményekkel, ahol kimutatták a törzsekben az *intrinsic* (belső) antibiotikum-rezisztencia gének jelenlétét, és ez a szerzett rezisztencia hiányát támasztja alá (Hamdaoui et al., 2024).

5. ábra: Nyers tehéntejből izolált *Lactococcus lactis* törzsek antibiotikum-rezisztenciája (Forrás: Hamdaoui et al., 2024)



Az egyes antibiotikumokkal szembeni érzékenység vizsgálata alapján a *Lactobacillus* fajok általában érzékenyek a sejtfalszintézist gátló penicillinekre és más β -laktám antibiotikumokra, és rezisztenciát mutatnak a cefalosporinokkal szemben. A nukleinsav-szintézist gátló antibiotikumok (pl. kinolonok, rifampicin) általában alacsony gátló hatást fejtenek ki a legtöbb *Lactobacillus* törzsre. A fehérjészintézis-inhibitorokkal – mint a kloramfenikol, makrolidok, linkozamidok és tetraciklinek – szemben a *Lactobacillus* fajok többsége érzékeny, míg az aminoglikozidokkal gyakran magas szintű természetes rezisztenciát mutatnak. Érdeemes viszont megjegyezni, hogy fajonként, törzsenként az érzékenységi mintázat jelentős variabilitást mutathat (Gueimonde et al., 2013).

1996-ban az Egyesült Államokban létrehoztak egy Nemzeti Antimikrobiális Rezisztencia Monitoring Rendszert (National Antimicrobial Resistance Monitoring System, NARMS). Célja, hogy figyelemmel kísérje a zoonotikus, élelmiszer-eredetű baktériumok antimikrobiális

gyógyszerekkel szembeni érzékenységének változásait, beleértve a kereskedelmi forgalomban lévő húsokból (például darált pulyka- és marhahús, sertéskaraj és csirkemell), valamint a vágóhidakon levágott csirkéből származó *E. coli* baktériumokat. Kiemelendő, hogy a 2000-es évek elején igen nagy számban izoláltak laboratóriumokban csirkéből és humán forrásból származó *E. coli*-kat, amelyek bizonyos antimikrobiális szerekkel szemben növekvő rezisztenciát mutattak, így például tetraciklinnel, ampicillinnel és szulfonamiddal szemben (Rehman et al., 2020).

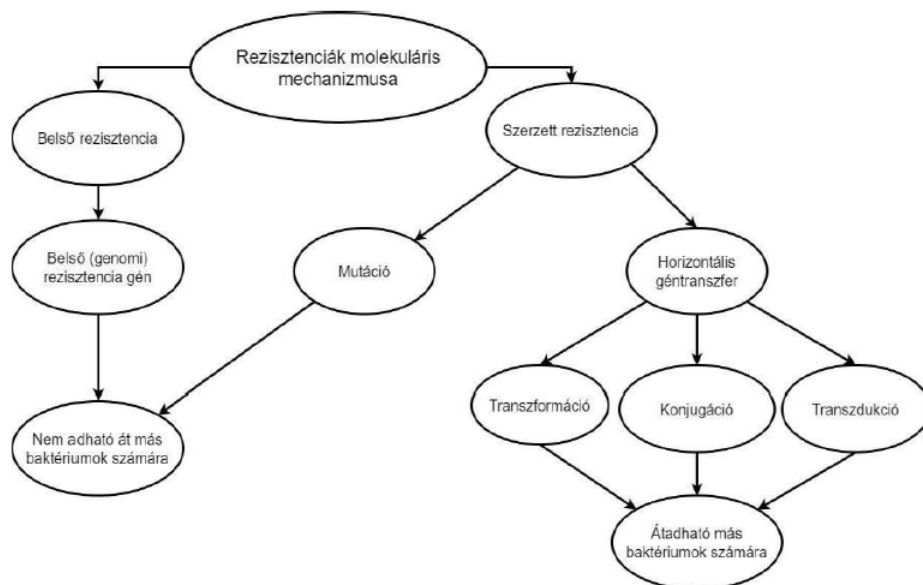
2.5. Fermentált tejtermékekben előforduló baktériumok rezisztencia gén közvetítésének és felvételének módszerei

Probiotikus törzsek esetén a FAO/WHO foglalkozik antibiotikum-rezisztencia génjeinek problémájával. A LAB probiotikumok kiválasztásának egyik legfontosabb szempontja az antibiotikum-rezisztencia génátviteli képességének meghatározása. A rezisztenciát hordozó törzsek használata nem engedélyezett. Amikor a probiotikumok bekerülnek a béltraktusba, kölcsönhatásba lépnek a natív mikrobiótával és génátvitel történhet. Ez hozzájárul a gyomor-bél traktusban jelen lévő kommenzalista vagy esetleges patogén baktériumokba történő antibiotikum-rezisztencia gének átviteléhez. A probiotikus laktobacillusokban található főbb rezisztenciagének közé tartoznak a tetraciklin-, az eritromicin-, a klóramfenikol-rezisztenciát kódoló *tet*, *erm* és *cat* gének. Más antibiotikum-rezisztencia géneket is leírtak, például a streptomycinre rezisztenciát kódoló *str* és a vankomicinre ellenálló képességet kódoló *vanA* gént. Ezen törzsek antibiotikum-rezisztenciájának azonosítása fenotípusos és genotípusos módszerekkel történhet: az egyes baktériumtörzsek esetén a leginkább releváns antibiotikumok minimális gátló koncentrációjának (MIC) meghatározásával, PCR-alapú technikák és mikroszkópikus elemzés alkalmazásával (Quinto et al., 2014).

Megkülönböztetünk szerzett és veleszületett (*intrinsic*) rezisztenciát. A szerzett antibiotikum-rezisztenciát mobilis genetikai elemek (plazmidok vagy transzpozonok) génjei kódolják és horizontális génátvitel útján kerül más baktériumokra, ezzel nagyobb kockázatot jelentve. Vele szemben a veleszületett antibiotikum-rezisztencia, mely belső (*intrinsic*) tulajdonság, nem vihető át baktériumról más baktériumra, és ezt a kromoszómális DNS-en található gének kódolják (Hamdaoui et al., 2024). A szerzett rezisztencia akkor alakul ki, amikor génmutáció vagy horizontális géntranszfer révén egy előzőleg antibiotikumra érzékeny baktérium rezisztenciát alakít ki. A probiotikumokban megjelenő szerzett antibiotikum-rezisztencia hátterében gyakran az adott gyógyszer ismételt vagy tartós alkalmazása áll, mivel ez szelektív nyomást gyakorol a baktériumokra. Ennek következtében a sejtek szerkezete,

illetve bizonyos élettani és biokémiai folyamataik módosulhatnak. Ez történhet a genetikai állomány mutációi révén, vagy külső eredetű genetikai elemek (például rezisztencia-gének) bevitelével. Az így kialakult változások végül oda vezethetnek, hogy a baktériumok nemcsak az adott antibiotikummal, hanem a hasonló hatásmechanizmusú szerek egy részével szemben is csökkent érzékenységet mutatnak. A belső vagy másnéven természetes rezisztencia az egyes probiotikus baktériumok jellemzője; főként kromoszómák belső rezisztencia génjeiken kódolt tulajdonság. A baktériumok rezisztencia mechanizmusa a 6. ábrán látható (Szulczer-Balog és Salamon, 2023).

6. ábra: A bakteriális rezisztencia-mechanizmus folyamatábrája (Forrás: Szulczer-Balog és Salamon, 2023)

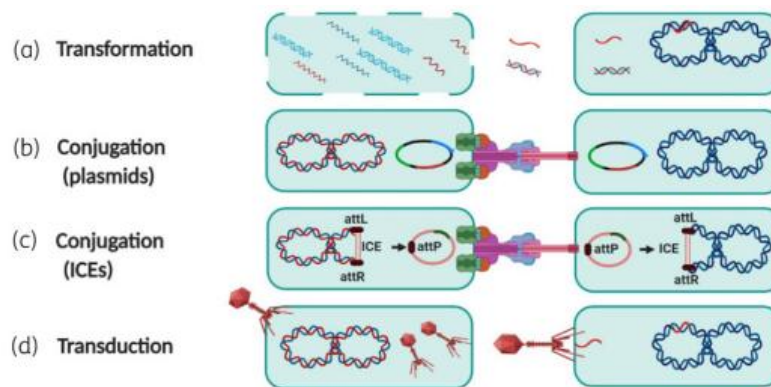


Az AMR által okozott kihívásokkal történő szembenézéshez tehát elengedhetetlen, hogy megértsük a baktériumok egymás közötti rezisztencia géneknek az átadási folyamatát. Az AMR gének vertikálisan a baktériumok osztódásakor, vagy laterálisan, mégpedig a horizontális géntvitel útján kerülnek át egyikből a másik baktériumba (Liu et al., 2022).

Egyre inkább elismert az a tény, hogy nemcsak a klinikai kórokozókban előforduló antibiotikum-rezisztencia gének relevánsak. Ide tartozik valamennyi patogén, kommenzalista és környezeti baktérium, mobilis genetikai elem és bakteriofág, amelyek együttese alkotja az ARG-k rezervoárját (a rezisztómát). A patogén baktériumok horizontális géntvitel útján ezektől szerezhetnek rezisztenciát. A gének terjedésének ellenőrzésére irányuló erőfeszítésekhez, a rezisztóma kiterjedésének és a patogén baktériumokba történő mobilizációjának ismerete tehát elengedhetetlen (Frieri et al., 2017).

A horizontális géntranszfer (HGT) egy olyan folyamat, amikor egy- vagy kettőszálú DNS kerül át egyik sejtől a másik sejtbe (Liu et al., 2022). A HGT három fő mechanizmusa a baktériumok között, a konjugáció, a transzformáció és a transzdukciónak (Verraes et al., 2013). A 7. ábra szemléletesen szemlélteti a fentiekben elhangzott transzformáció (a), konjugáció két típusának (b) és (c), és a transzdukciónak (d) folyamatait (Liu et al., 2022).

7. ábra: Horizontális géntranszfer (HGT) fő mechanizmusainak szemléletes ábrázolása (Forrás: Liu et al., 2022)



Ezek a folyamatok előfordulhatnak a környezetünkben, valamint az élelmiszereinkben is. A transzdukciónak során a bakteriofág egy baktériumhoz kapcsolódva annak genetikai anyagát részben befogadhatja, majd egy másik baktériumba juttatja, ezáltal lehetővé téve a géntávitelt a két sejt között. A vírusfertőzés során tehát nemcsak a fág replikációja történik, hanem a baktérium DNS-ének egy része is átkerülhet az új gazdasejtbe, ami horizontális géntranszferhez (HGT) vezet (Verraes et al., 2013). A transzformáció esetén viszont közvetlenül DNS-t vesz fel a baktérium, mely származhat a környezetből az elpusztult és szétesett sejtekből, vagy pedig mesterségesen előállított DNS szakaszokból. A DNS-fragmentum, a homológ recipiens DNS-szakaszhoz hidrogénhidakkal kapcsolódik, és a következő replikáció alkalmával kicserélődnek a recipiens és donor DNS-szakaszok, megtörténik a rekombináció (György, 2021).

A horizontális géntranszfer, a multirezisztencia kialakulását elősegítik az olyan genetikai struktúrák, mint a plazmidok, integronok és transzpozonok, melyek mobilis genetikai elemek és a DNS egy részét teszik ki. A HGT gyakorisága függ a mobilis genetikai elem tulajdonságaitól, a donor és a recipiens populációk jellemzőitől és a környezettől is (Verraes et al., 2013). A mobilis genetikai elemek tehát képesek a genom egyik részéről a másikkra áthelyeződni. Ilyenek például az inszerciós szekvenciák és a transzpozonok (György, 2021).

A konjugációnak van a legjelentősebb hatása a rezisztenciagének környezetben való terjedésére (Toomey et al., 2009). Kísérleti vizsgálatok a konjugációról számoltak be élelmiszer-mátrixokban, például plazmidon keresztül terjedő ampicillin-rezisztencia gének átviteléről *Salmonella* Typhimurium-ból *E. coli* K12 törzsébe a beoltott sterilizált tejben és darált marhahúsban, illetve tejsavbaktériumokból (*Enterococcus faecalis*, *Lactococcus lactis*) patogén törzsekbe (*Listeria* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* és *E. coli*) fermentált teljes tejben (LAB donorokkal fermentálva). Közegészségügyi kockázatot jelenthet, ha az antimikrobiális szerekekkel szemben rezisztens kórokozó baktériumok a fogyasztók szervezetébe kerülnek. A problémát az okozza, hogy növelik azt a génkészletet, amelyből a (patogén) baktériumok felvehetnek antimikrobiális-rezisztencia géneket, és esetleg átvihetik azokat más (patogén) baktériumokra. *In vitro* vizsgálatok már kimutatták például az eritromicin-rezisztencia gének átvitelét LAB-okból *Listeria* fajokba (Verraes et al., 2013).

2.6. Konjugációs és transzkonjugációs vizsgálati módszerek

A konjugáció jelenségét először Edward Tatum és Joshua Lederberg 1946-ban fedezték fel. Kimutatták, hogy a baktériumok úgynevezett F (fertilitási) faktor közvetítésével genetikai információt tudnak cserélni a DNS egyirányú átvitelével. Később rájöttek, hogy az F-faktor egy replikatív, kromoszómán kívüli genetikai elem, melyre a plazmid kifejezést alkották meg, és a szülői törzsek sejtmembránján keresztül átvihető (Virolle et al., 2020). Az F-faktor homológ rekombináció révén integrálódhat a bakteriális kromoszómába, ha olyan elemeket (például IS (inszerciók szekvencia)) hordoz, amelyek hasonlóságot mutatnak a kromoszómális IS elemekkel. Az integrált konjugatív plazmiddal rendelkező baktériumokat Hfr (high-frequency recombination, nagy gyakorisággal rekombinálódó) sejteknek nevezik, amelyek általában kis gyakorisággal ($\sim 10^{-5}$ és 10^{-6} közötti) keletkeznek, és a konjugáció során kromoszómájuk egy részét, vagy akár egészét is átvihetik (Katana, 2021).

Az F-plazmid felfedezése óta a konjugatív elemek (köztük plazmidok, konjugatív transzpozonok és integratív konjugatív elemek (ICE-k)) sokaságának azonosítása feltárta, hogy a konjugáció egy általánosan konzervált DNS-átviteli mechanizmus a Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumok között. Továbbá az is kiderült, hogy egy olyan univerzális folyamatról van szó, amely a talajban, a növényi felületeken, vízben és szennyvízben, valamint a biofilmekben és a növényi vagy állati gazdaszervezetekhez kapcsolódó baktériumközösségekben fordul elő. Ez a folyamat megkönnyíti a baktériumtörzsek alkalmazkodását bizonyos tulajdonságok, így például a rezisztencia közvetítésével, ezért a bakteriális genomok gyors evolúciójának egyik fő hajtóereje (Virolle et al., 2020).

A konjugatív DNS-transzfer tehát a biotechnológiai alkalmazások alapvető eszköze, valamint a mikrobiális evolúció egyik fő mozgatórugója. Rendkívül változatos gazdasejtek között mobilizálhatja a DNS-t. Ezzel a mechanizmussal hosszú (akár több millió nukleotidból álló) DNS szállítása valósulhat meg az olyan recipiens sejtekhez, melyek immunisak lehetnek az egyszerűbb módszerekre, így például a közvetlen DNS transzformációra. Mekkora a konjugatív transzfert végző sejtek tényleges választéka? Ezt milyen tényezők határozzák meg? Valamint mi határozza meg a DNS-átvitel hatékonyságát a különböző recipiens sejtekbe? Az ezekre és még hasonló kérdésekre adott válaszok segítik elő a konjugatív transzfer mikrobiális evolúcióra gyakorolt hatásának magyarázatát és előrejelzését, illetve adnak javaslatot a nem domesztikált mikrobák univerzális DNS-szállító eszközeinek kifejlesztésére alkalmas stratégiákra. Ugyan lehetetlen kísérletileg tesztelni az összes ismert recipiens sejtre, korábbi tanulmányok mégis betekintést nyújtanak ezen témával összefüggésben (Chuenam et al., 2025). Számos publikált konjugációs kísérlet számol be arról, hogy az antimikrobiális szerek jelentősen fokozhatják a különböző mobilis genetikai elemek átviteli gyakoriságát, mind *in vitro* körülmények között, mind állatok bélrendszerében. A szokásos kiértékelési mód szerint a transzkonjugánsok (baktériumok, melyek átvették a rezisztencia géneket) számát viszonyítják a recipiens- vagy donor-sejtek számához (Liu et al., 2022).

A plazmid-konjugációs kísérletek értelmezéséhez azonban néhány fogalmat tisztázni szükséges. A konjugáció tehát egy olyan folyamat, amikor a recipiens (R) és a donor (D) között közvetlen érintkezés útján plazmid átvitel történik. A folyamat során így a recipiensből transzkonjugáns (T) lesz. Ezen (transzkonjugáns) populáció ugyanazokat a kromoszómákat és plazmidokat tartalmazza, mint a recipiens populáció, valamint a konjugációval a donortól átvitt plazmid(oka)t. A konjugációs ráta (plazmid átadási ráta) írja le, hogy hány konjugációs esemény történik az adott donor-sejtsűrűsége és időegységre vetítve. Ez a paraméter jellemzi egy adott plazmid horizontális, fertőző terjedését, valamint a transzkonjugánsok számának ennek megfelelő növekedését. A folyamat függ a környezeti feltételektől, azaz, hogy milyen sejteket milyen környezeti feltételek mellett vizsgálunk. Ezzel szemben a konjugációs gyakoriság (populációs arányok) nem a konjugáció dinamikáját mérik, hanem azt, hogy az adott plazmid milyen relatív sikerrel jelenik meg egy új gazdaszervezetben. Utóbbit tehát a konjugáció sikerességének mérésére használják, a populációs arányok ugyanis nem a folyamat sebességét mutatják meg, hanem azt, hogy a plazmidnak milyen arányban sikerül átjutnia egy új gazdába (Kosterlitz és Huisman, 2023).

Egy antibiotikum befolyásolhatja a teljes konjugációs dinamikát azáltal, hogy a konjugáció hatékonyságát módosítja vagy azáltal, hogy szelekciós erőként hat a konjugáció utáni

populációdinamikára, vagy mindkét módon egyszerre. Állatkísérletek és klinikai megfigyelések is utalnak arra, hogy az antibiotikum-kezelés elősegítheti a rezisztencia terjedését konjugációval, de ezt a bonyolult tényezők miatt még nem sikerült egyértelműen bizonyítani (Lopatkin et al., 2016).

2.7. DNS-alapú módszer a mikrobák molekuláris biológiai jellemzésére

A mikroorganizmusok fenotípus alapú jellemzése mellett nagyon sok esetben hasznos információkat nyújthat a genom alapú jellemzésük (tipizálásuk) is. A véletlenszerűen felszaporított polimorfikus DNS (random amplified polymorphic DNA, továbbiakban RAPD) technikát két különböző laboratórium fejlesztette ki, és RAPD, valamint AP-PCR (Arbitrary Primed PCR) módszereknek nevezték, mely egy PCR-alapú technika a genetikai variáció azonosítására. Ez a módszer nukleotid szekvencia-polimorfizmusokat mutat ki DNS-amplifikáción alapuló vizsgálatban, egyetlen, tetszőleges nukleotid szekvenciájú primert használva. Egy 8-12 nukleotidból álló primert használ, mely általában számos, elkülönülő DNS amplikont eredményez. Az így létrejött, eltérő méretű DNS-szegmensek véletlenszerűek. Ez a technológia gyors és hatékony a DNS-szekvencia-polimorfizmusok vizsgálatára (Kumari és Thakur, 2014). A módszert élelmiszerekből izolált laktobacillusok genetikai diverzitásának értékelésére is alkalmazzák (Andrighetto et al., 2001). A vizsgálatok során a sejtekből kivont genomiális DNS-t egyetlen rövid indító szekvenciával szaporítják fel, mely nem teljes homológia esetén is képes az egyszálú DNS-hez kapcsolódni a PCR reakció során alkalmazott, alacsonyabb primer kötődési hőmérsékleten (36-42 °C-os). A PCR reakció során keletkezett termékek akkor jönnek létre, ha a primerek kötődési helyei megfelelő irányban az amplifikációs távolságon belül (5000 bázispárnál kevesebb) helyezkednek el. A folyamat során eltérő erősségű amplikonok jönnek létre, mivel a primerek kötődésének a hatékonysága változik a szekvenciájuk és az alkalmazott hibridizációs hőmérséklet függvényében. A reakciósorozat végére különböző méretű DNS-amplikonok keletkeznek, melyeket agaróz gélelektroforézissel választanak el, és az így kapott mintázat a vizsgált mikrobatorzs molekuláris ujjlenyomatát adja. Eredményképp az azonos fajhoz tartozó törzsek megkülönböztetését (tipizálását) lehet végrehajtani (Belák, 2009).

A RAPD-PCR előnye, hogy gyorsan elvégezhető, ugyanakkor reprodukálhatósága sok esetben korlátozott, valamint a módszer rendkívül érzékeny a reakciókörülményekre. Ezt támasztja alá Johansson és munkatársai 1995-ből származó munkája, ahol a *Lactobacillus plantarum* törzsek mintegy 50 %-át tudták csak sikeresen tipizálni. A szerzők munkájuk során

22 különböző közegből izolált *Lactobacillus* törzset használtak, többféle DNS extrakciós módszert alkalmaztak, illetve kilenc féle primert hasonlítottak össze. Kiemelték, hogy a *Lactobacillus* törzsek RAPD-PCR módszerrel történő tipizálása nehézkes lehet, mivel mind az extrakciós módszer, mind a primerek mennyisége és koncentrációja kritikus paraméter a módszer ismételtetését tekintve.

3. ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

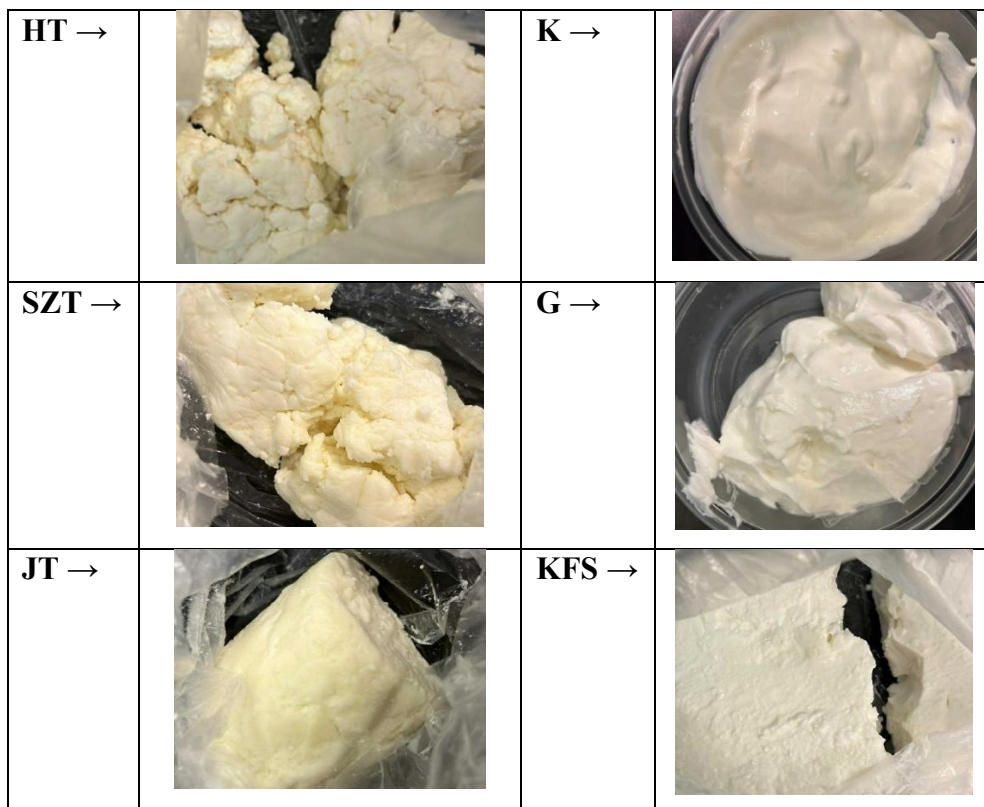
A vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Budai Campusának Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszékén végeztem konzulenseim támogatásával.

3.1. Vizsgálati minták

A vizsgált fermentált tejtermékek Budapest egyik legnagyobb piacról kerültek begyűjtésre. Célom az volt, hogy a lehető legkevesebb feldolgozási eljárás után átesett fermentált tejtermékekkel tudjam a kísérletet végrehajtani. A minták begyűjtését követően hűtött körülmények között szállítottam őket a laboratóriumba, ahol azonnal megkezdődött a vizsgálatra való előkészítésük.

A választott termékeim a fenti kritériumnak megfelelően a következők voltak: friss házi túró (HT), szlovák juhtúró (SZT), erdélyi juhtúró (JT), krémsajt (K), friss görögjoghurt (G) és krémfehérsajt (KFS), melyek fényképei a 8. ábrán láthatóak. A felsorolt és megvásárolt termékek nevei megegyeznek a piacon feltüntetett elnevezésükkel.

8. ábra: A vizsgált fermentált tejtermékek. HT: friss házi túró, K: krémsajt, SZT: szlovák juhtúró, G: friss görögjoghurt, JT: erdélyi juhtúró és KFS: krémfehérsajt (*Forrás: saját fényképek*)



3.2. Vizsgálati minták előkészítése

A vizsgálatok során első lépéseként a frissen beszerzett szilárd vagy félszilárd, nem teljesen homogén mintákat a mikrobiológiai vizsgálatokhoz elő kellett készíteni. Ehhez kb. 10-10 gramm mintát steril Stomacher zacskókba mértem ki, és kilencszeres mennyiségű hígító folyadékot öntöttem hozzájuk, majd homogenizálást követően tizedelő hígítási sort készítettem belőlük.

A tizedelő hígítási sorok elkészítéséhez alkalmazott kémcsövekbe 9 ml hígító folyadékot kellett adagolna. A hígító folyadék összetétele:

- 1000 ml desztillált víz
- 8,5 g NaCl
- 1 g pepton

Az elkészített hígító folyadék sterilizése 15 percig 121 °C-on történt! A tizedelő hígításra azért volt szükség, hogy leszámolható mennyiségű telepet kapjak a későbbi vizsgálatok során.

3.3. Izolálási lépések, felhasznált tápközegek, anyagok

3.3.1. Fermentált tejtermékek specifikus baktériumainak izolálása

Az izolálási folyamat célja a fermentált tejtermékekben jelen lévő mikroorganizmusok tenyésztése és elkülönítése volt. A mintákból származó hígítási tagokat steril körülmények között különböző szelektív tápközegekre oltottam, amelyek lehetővé tették a célzott baktériumcsoportok – elsősorban tejsavbaktériumok – növekedését. A felhasznált táptalajok a különböző mikroorganizmusok kimutatásához az 1. táblázatban láthatóak.

1. táblázat: Felhasznált táptalajok funkció szerint

Táptalaj	Funkciója
RBC agar (bengálrózsát és kloramfenikolt tartalmazó agar)	élesztők és penészek kimutatása
mMRS-BPB agar (módosított deMan-Rogosa Sharpe agar brómfenolkékkel kiegészítve)	tejsavbaktériumok kimutatása és elkülönítése eltérő színű és morfológiájú telepeik alapján
M17 agar	<i>Streptococcus</i> -ok kimutatása
TGE (tripton glükóz élesztőkivonat) agar	univerzális agar mikroorganizmusok kimutatására

Mindegyik tápagart autoklávban steriliztem, majd mintánként a 2., 4. és 5. hígítási tagot oltottam le.

Az inkubációs körülményeket a kimutatandó mikroorganizmusok típusához igazítottam. A leoltott táptalajok közül a mMRS-BPB-t és az M17-et 30 °C-on anaerob tenyészedényben inkubáltam 24-72 óráig, míg a TGE lemezeket szintén ezen a hőmérsékleten, azonban aerob körülmények között. Az RBC agarokat 25 °C-on, aerob körülmények között minimum 3 napig inkubáltam. A tenyészetekből származó kolóniákat morfológiai jellemzőik alapján elkülönítettem, majd átoltással tiszta tenyészeteket készítettem belőlük.

3.3.2. Tiszta tenyészet készítése és a mikroorganizmusok differenciálása

A tiszta tenyészetek előállítása elengedhetetlen volt a további vizsgálatokhoz, különösen az azonosítás és az antibiotikum-rezisztencia tesztek szempontjából. A kolóniák átoltása során arra törekedtem, hogy egyetlen baktériumtörzs legyen jelen a tenyészetben, így biztosítva a további vizsgálatok pontosságát.

TSA (Tryptic Soy Agar) agarokra leoltottam a sejteket a tiszta tenyészet készítési eljárásnak megfelelő módon. Miután elkészítettem a leoltást, 30 °C-on anaerob tenyészedényben inkubáltam az agarokat.

Az eltérő morfológiájú telepekből kis mennyiséget oltottam TSA agarra, majd az eljárásra jellemző technikával – steril oltókaccsal történő széthúzással – egyenletesen eloszlattam a mintát az agar felületén. Az így előkészített agarlemezeket a vizsgált mikroorganizmus típusától függően 30–37 °C közötti hőmérsékleten inkubáltam, 18–48 órás időtartamban. Az inkubációs idő leteltével az agarokon megjelent telepeket morfológiai homogenitás alapján értékeltem, és az egyértelműen elkülönült, homogén kolóniákat WL agarra oltottam át további vizsgálat céljából.

A vizsgálat következő lépéseként WL agar tápközeg került előállításra, amelyet a fermentált tejtermékekből származó mikroorganizmusok – élesztőgombák, penészek és baktériumok – elkülönítésére alkalmaztam. A WL agar széles spektrumú táptalajként alkalmas különféle mikroorganizmusok kimutatására és differenciálására, mivel összetétele lehetővé teszi a különböző sejttípusok szelektív növekedését. A tápközeg, melyet gyártói ajánlás alapján készítettem (Merck) dextrózt, élesztőkivonatot, peptont, glükózt, kálium-dihidrogén-foszfátot, kálium-kloridot, kalcium-kloridot, magnézium-szulfátot, vas-kloridot, mangán-szulfátot tartalmaz, amelyek biztosítják a mikrobák optimális tápanyagellátását. Emellett brómkrezolzöld pH-indikátort is tartalmaz, amely színváltozással jelzi a mikroorganizmusok

metabolikus aktivitását, így elősegítve azok elkülönítését, valamint agar port, hogy szilárd táptalaj legyen. A minták leoltását követően a Petri-csészéket 30 °C-on inkubáltam, amely ideális a fermentációs mikroorganizmusok szaporodásához.

A tenyészetek morfológiai jellemzőinek pontosabb meghatározása érdekében mikroszkópos vizsgálatot is végeztem. A vizsgálat során 10 µl steril desztillált vizet cseppenttem a tárgylemezre, amelybe oltókaccsal eloszlattam az egyes kolóniákból származó sejteket. A mintákat fedőlemezzel lefedtem, majd megvizsgáltam a sejtek alakját, méretét, elrendeződését. Azokban az esetekben, ahol a sejtek morfológiája nem volt egyértelműen megfigyelhető, a nagyítást növeltem, és immerziós olaj alkalmazásával végeztem el a mikroszkópos analízist.

3.4. Izolátumok azonosítása MALDI-TOF MS vizsgálattal

A makro- és mikro morfológiai vizsgálatok mellett elvégeztem az izolált mikroorganizmusok fajszerű azonosítását, amelyhez a MALDI-TOF MS (mátrixközvetített lézer deszorpciós/ionizációs – repülési idő tömegspektrometriás) technikát alkalmaztam. Ez a korszerű, nagyműszeres analitikai módszer lehetővé teszi biológiai makromolekulák – például fehérjék – ionizálását gáz fázisban, majd azok tömeg/töltés arányának meghatározását repülési idő alapján. A technika lényege, hogy a mintát egy fényelnyelő mátrixanyaggal keverve tárgylemezre kell szárítani, majd besugárzás hatására a molekulák ionizálódnak. Az így keletkező ionokat a „Time of Flight” detektor méri, és az eredményeket egy referencia-adatbázissal összevetve történik az azonosítás.

A vizsgálat során 24 órás tiszta tenyészeteket használtam, amelyeket steril fogvájók segítségével vittem fel a MALDI lemezre. Ezután 1 µl hangyasavat pipettáztam a sejtekre, majd annak elpárolgását követően 1 µl α-ciano-4-hidroxi-fahéjsav mátrixszal fedtem le a mintákat. Az egyes komponensek szerepét a MALDI vizsgálat során a 2. táblázat szemlélteti.

2. táblázat: MALDI-TOF MS vizsgálat során felhasznált anyagok funkció szerint

Felhasznált anyag	Funkció
1 µl hangyasav (70 % -os)	sejtfeltárás a sejtfal lazításával
1 µl α-ciano-4-hidroxi-fahéjsav	segít ionizálásban, megvédi molekulákat

A lemez esetén a tömegspektrumokat Microflex LT/SH (Bruker Daltonics GmbH & Co., Bréma, Németország) tömegspektrométer rögzítette, amely 60 Hz-es frekvenciájú nitrogén lézerrel (lambda = 337 nm) van felszerelve. A mérés során kapott spektrumok alapján a

mikroorganizmusok azonosítása pontszám (*score*) szerint történik. A 3. táblázat foglalja össze az azonosítás milyenségét jelző pontszámokat.

3. táblázat: Mikroorganizmusok azonosítása MALDI-TOF MS-sel a vizsgálati pontszámok alapján

Azonosítás	Színkód	Pontszám (<i>score</i>)
faj szinten	zöld	2 <
nemzettség szinten	sárga	1,8-2
megbízhatatlan	piros	< 1,8

3.5. Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat

A vizsgálat megkezdése előtt 24 óras friss tenyészeteket készítettem, amelyek biztosították a fiatal, aktív sejtek jelenlétét. A sejtkoncentráció standardizálása érdekében optikai denzitás (OD) mérést végeztem, amely során a célérték ~ 0,5 volt, ami megközelítőleg 10^8 sejt/ml koncentrációnak felel meg. Az OD-érték beállítása steril sóoldat segítségével történt alapos vortexelés után. A megfelelő sejtsűrűség elérése kulcsfontosságú volt az antibiotikumok hatásának pontos értékeléséhez.

A vizsgálati szuszpenziókat steril tamponnal vittem fel az előkészített tápközegekre, majd az agar felületére antibiotikum korongokat helyeztem. A tejsavbaktériumokat anaerob körülmények között 30 °C-on inkubáltam 24–48 órán keresztül. Ezt követően megmértem és dokumentáltam az antibiotikumok körül kialakult feltisztulási zónák átmérőjét, amely alapján meghatározható volt a törzsek érzékenysége/rezisztenciája az adott hatóanyaggal szemben. Valamennyi törzs esetében három párhuzamban történt a rezisztencia vizsgálat. A tesztek során alkalmazott antibiotikumokat a 4. táblázat foglalja össze.

4. táblázat: Mikroorganizmusok azonosítása MALDI-TOF MS-sel a vizsgálati pontszámok alapján

Antibiotikum csoport	Antibiotikumok	Antibiotikum koncentráció
Dihydrofolát-reduktáz gátlók	Trimethoprim	5 µg
Tetraciklinek	Tetracycline	30 µg
Monobaktámok	Aztreonam	30 µg
Makrolidok	Azithromycin	15 µg
Aminoglikozidok	Streptomycin	300 µg
Aminoglikozidok	Kanamycin	30 µg
Glikopeptidek	Vancomycin	30 µg
Béta-laktámok (penicillinek)	Oxacillin	1 µg
Amfenikolok	Chloramphenicol	30 µg
Lincosamidok	Clindamycin	2 µg
Aminoglikozidok	Neomycin	20 µg
Béta-laktámok (penicillinek)	Penicillin	6 µg

3.6. RAPD-PCR reakció

A vizsgált törzsek molekuláris biológia vizsgálata során az izolált DNS-eket D8635-ös primerrel amplifikáltam RAPD-PCR reakcióban.

A Pavlidou és munkatársai (2011) által publikált módszer alapján a genomi DNS egyéjszakás mikroba tenyészetből lett kivonva. A DNS tisztasága, valamint koncentrációja NanoDrop készülékkel lett meghatározva. Az RAPD analízist megelőzően a DNS minták egységesen 50 ng/µl koncentrációra lettek kihígítva. A RAPD-PCR reakcióelegy a következőket tartalmazta:

- 1 × *Taq* puffer
- 1,25 mM MgCl₂
- 0,3 mM dezoxiribonukleozid-trifoszfát (dNTP)
- 0,5 µM D8635 primer
- 0,75 U *Taq* DNS-polimeráz
- 50 ng DNS
- ddH₂O.

A reakciók végső térfogata 25 µl-re lett beállítva. A primer annealálási hőmérséklete 36 °C volt. Az amplifikációs termékek 2 % (m/v) agaróz gélen 0,5 × TBE pufferben (27 g Tris-bázis, 13,75 g bórsav, 2,02 g EDTA, pH 8,5) kerültek elválasztásra (Pavlidou et al., 2011).

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. A fermentált tejtermékekben előforduló mikroorganizmusok izolálása, jellemzése és azonosítása

Az izolálási eredményeket a morfológiailag eltérő telepek száma alapján jegyeztem fel. A legnagyobb morfológiailag eltérő telepszámot a friss házi túró (HT) mintában detektáltam, melyet majdnem azonos telepszámmal az erdélyi juhtúró (JT) követett. Ezt a szlovák juhtúró (SZT), majd pedig szorosán a krémsajt (K) követte. A csökkenést követve utolsó előttiként a friss görögjoghurt (G), majd a legalacsonyabb értéket a krémfehérsajt (KFS) esetében mértem. Ez arra utal, hogy a különböző fermentált tejtermékek mikrobiális összetétele jelentősen eltér, amelyet befolyásolhat a gyártás, az alapanyag minősége és az érlelési idő. A következő táblázat (5. táblázat) mutatja, hogy mintánként a különböző agarokról hány darab morfológiailag eltérő telepet számoltam le. A táblázat felső sorában láthatók a minták nevei kódszámmal együtt, az első oszlopban pedig a tápagarok. A táblázatban látható telepek száma (darab) is igazolja a fentebb leírt eredményt. Lényeges, hogy ez nem az összesen, agaronként leszámolt telepeket mutatja, csak azokat, amelyek szemmel láthatóan is jelentős különbséget mutattak. Ahol kihúzás látható, azon agar esetében egyáltalán nem volt megfigyelhető telep növekedés.

5. táblázat: Morfológiailag elkülönülő telepek száma agaronként (M17, RBC, TGE, mMRS-BPB) a mintákban (HT - friss házi túró, JT - erdélyi juhtúró, SZT - szlovák juhtúró, K – krémsajt, G – görögjoghurt, KFS - krémfehérsajt)

Minta kód	Eltérő morfológiájú telepek száma (db)				Összesen
	M17 agar	TGE agar	RBC agar	mMRS-BPB agar	
HT	3	3	2	4	12
JT	2	3	3	3	11
SZT	2	2	2	3	9
K	1	2	2	3	8
G	2	2	-	2	6
KFS	1	1	-	1	3
Összesen	11	13	9	16	49

Az M17 agar a *Streptococcus* nemzetségek számára biztosít ideális növekedési környezetet (Terzaghi és Sandine, 1975). A TGE agar univerzális táptalajként szolgált a különböző mikrobák szaporodásához (Guidone et al., 2015). Az RBC agar alkalmazása az élesztő- és penészgombák kimutatására szolgált, mivel a benne lévő chloramphenicol hatóanyag gátolja a baktériumok növekedését, így lehetővé teszi a gombák szelektív tenyésztését (Aşkun et al., 2007). Az mMRS-BPB, azaz módosított MRS agar bróm-fenol-kékkel színezve, a

Lactobacillus fajok differenciálására, számlálására alkalmas, mivel a telepek szín- és morfológiai eltérései igen jól megfigyelhetők rajta (Lee és Lee, 2008).

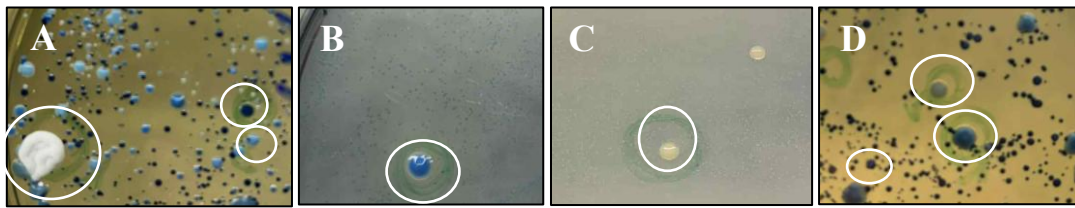
A leszámolt telepeknek részletesen dokumentáltam a morfológiai jellemzőit, mint például telepforma, -szín, -méret és- felület, amelyek összefoglalója a 6. táblázatban látható.

6. táblázat: Eltérő telepek morfológiai jellemzői (Forrás: saját munka)

Minta kód	Eltérő telepmorfológiák			
	M17 agar	RBC agar	TGE agar	mMRS-BPB agar
HT	1. nagy, fodros szélű, sárga közepű kör 2. fehér, bolyhos felületű, kör 3. szabályos, sima felületű kör	1. szabályos, halvány kör 2. szabálytalan kör	1. nagy, fehér kör 2. nagy, enyhén fodrozott, sárgás-fehéres kör 3. kis szabályos fehér kör	1. nagy, bolyhos világoskék kör 2. kékes-fehéres szabályos kör 3. kis sötétkék, szabályos kör 4. kis világoskék, szabályos kör
JT	1. fehér, szabályos kör 2. fehér, fodrozott kör	1. nagy, fehér-halvány rózsaszínes bolyhos kör 2. rózsaszín, szabályos, kis kör 3. halvány rózsaszín, szabályos, kis kör	1. nagy, fehér, mattos szabályos kör 2. szabálytalan, sárga, fényes kör 3. kis, fehér, szabályos kör	1. nagy, szabálytalan, fehér, matt kör 2. kis, világoskék kör 3. kis, sötétkék kör
SZT	1. nagy, fehér, fodrozott, matt kör 2. fehér, szabályos, fényes kör	1. szabályos, rózsaszín, fényes kör 2. szabályos, rózsaszín-fehér, fényes kör	1. nagy, szabálytalan, sárga-fehér, fényes kör 2. kis, szabálytalan, fehér, fényes kör	1. szabályos, fényes, világoskék kör 2. kis, szabályos, fényes, fehéres-kék kör 3. kis, fényes, szabályos, sötétkék kör
K	1. fényes, szabályos, fehér kör	1. szabályos, rózsaszín, fényes kör 2. kis, fehér, fényes kör rózsaszín szegéllyel	1. nagy, fehér, fényes, szabályos kör 2. rózsaszín, fényes, szabályos kör	1. nagy, fodrozott, világoskék, matt kör 2. szabályos, fényes, fehér kör 3. szabályos, fényes, kékes kör
G	1. sárgás, szabályos, kis kör 2. fehéres-sárgás, szabályos, kis kör	-	1. halvány sárgás-fehéres, szabályos, fényes kis kör 2. kis, fehér, szabályos kör	1. szabályos, fényes, kék kör 2. kis, szabálytalan szélű, kékes kör, fehér pöttyökkel
KFS	1. halvány, fehér, szabályos kör	-	1. kis, fehér, szabályos kör	1. sötétkék középpel, fodrozott kör

A telepmorfológiák a 9. ábrán a következő sorrendben láthatóak balról jobbra: A: erdélyi juhtúróból mMRS-BPB agaron kifejlődött telepek, B: görögjoghurtból mMRS-BPB agaron nőtt telepek, C: görögjoghurtból TGE agaron nőtt telepek, D: szlovák juhtúróból mMRS-BPB agaron nőtt telepek.

9. ábra: Izolált baktériumok eltérő telepmorfológiája (Forrás: saját fényképek)



Következő lépésként, a különböző morfológiájú telepek kiértékelése során az eltérő megjelenésű kolóniákból steril oltókaccsal, aszeptikus körülmények között mintát vettem, és TSA táptalajon tiszta tenyészeteket készítettem. A TSA egy nem szelektív, általános célú tápközeg, amelyet széles körben alkalmaznak laboratóriumi körülmények között különféle baktériumfajok növekedésének támogatására. Összetételének köszönhetően – amely tartalmaz például tripszint, szójakivonatot és glükózt – alkalmas mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív mikroorganizmusok számára, így kiváló eszköz a tenyészetek elsődleges izolálására és fenntartására (Wu és Fung, 2001).

A tiszta tenyészet tehát olyan mikrobiológiai kultúra, amely egyetlen mikroorganizmus-fajból/törzsből áll. Előállítása alapvető lépés minden mikrobiológiai vizsgálat során, mivel csak így biztosítható, hogy a további vizsgálatok megbízható, reprodukálható eredményeket szolgáltatassanak. A technika pontos és szakszerű alkalmazása elengedhetetlen a laboratóriumi munka hitelességéhez, és alapját képezi minden további mikrobiológiai eljárásnak, beleértve az azonosítást, rezisztenciavizsgálatot is (Hahn et al., 2019).

A WL agaron kinőtt tenyészeteket mikroszkópos vizsgálatnak vettem alá, hogy megbizonyosodjak arról, valóban egyféle mikroorganizmust tartalmaznak. A mikroszkópos analízis során a sejtek morfológiáját is dokumentáltam, amely lehetővé tette az élesztősejtek és baktériumsejtek elkülönítését. Az eredmények összefoglalása a 7. táblázatban található.

7. táblázat: Az izolátumok mikromorfológia jellemzése

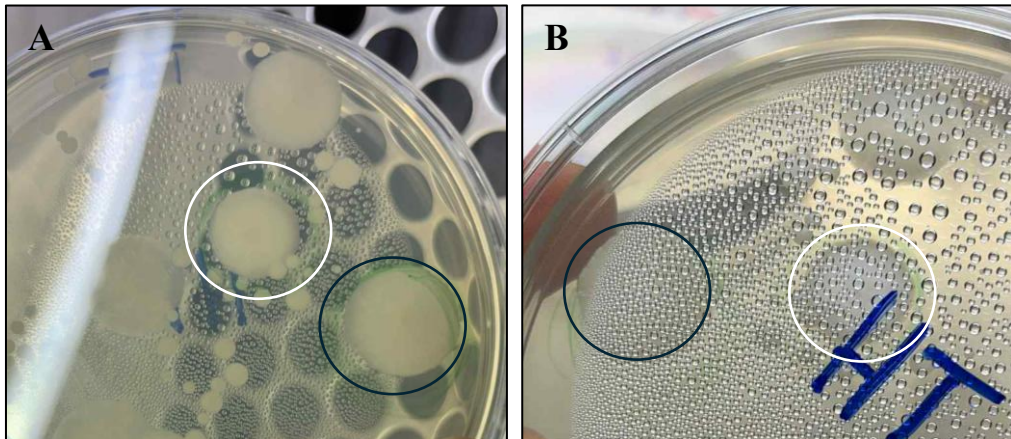
Sorszám	Minta kód	Agarról izolált	Mikroszkópos sejtmorfológia	Feltételezett mikroba
1	K	TGE 1.	kerek	élesztő
2	K	TGE 2.	láncszerű, kevésbé elágazó	álhifás élesztő
3	JT	TGE 2.	pálca	baktérium
4	JT	TGE 1.	kerek	élesztő
5	JT	RBC 2.	kerek	élesztő
6	JT	RBC 3.	kerekded, ovális	élesztő
7	JT	MRS 1.	hosszú, elágazó fonalak	valódi hifás élesztő
8	K	MRS 3.	ovális	élesztő
9	K	MRS 1.	láncszerű, kevésbé elágazó	álhifás élesztő
10	K	RBC 1.	kerekded, ovális	élesztő
11	SZT	MRS 2.	kerek	élesztő
12	SZT	M17 1.	kerek	élesztő
13	SZT	M17 2.	kerek	élesztő
14	SZT	RBC 1.	kerekded, ovális	élesztő
15	SZT	RBC 2.	láncszerű, kevésbé elágazó	álhifás élesztő
16	HT	MRS 1.	hosszú, elágazó fonalak	valódi hifás élesztő
17	HT	MRS 2.	kerekded, ovális	élesztő
18	HT	TGE 2.	hosszú, elágazó fonalak	valódi hifás élesztő
19	HT	RBC 2.	kerekded, ovális	élesztő
20	HT	M17 2.	hosszú, elágazó fonalak	valódi hifás élesztő
21	HT	RBC 1.	kettévált, szimmetrikus	hasadó élesztő
22	JT	MRS 2.	rövid, kövér pálca	baktérium
23	JT	M17 5.	hosszabb, vékonyabb pálca	baktérium
24	SZT	TGE 3.	kokkoid lánc	baktérium
25	SZT	MRS 1.	hosszabb pálca	baktérium
26	G	MRS 2.	közepes pálca	baktérium
27	G	TGE 2.	kokkuszkok	baktérium
28	K	M17 2.	rövid pálca	baktérium
29	HT	MRS 4.	kokkuszkok	baktérium
30	JT	MRS 3.	vastag, nagy pálca láncokban	baktérium
31	KFS	TGE 1.	nyúltabb pálca láncban	baktérium
32	SZT	MRS 3.	pálca	baktérium
33	G	M17 2.	hosszabb pálca	baktérium

Mivel a kutatás kizárólag baktériumokra fókuszált, az élesztősejteket nem vontam be a további vizsgálatokba. A mikroszkópos ellenőrzés így nemcsak a tiszta tenyészetek megerősítését szolgálta, hanem biztosította a vizsgálat céljának megfelelő mikroorganizmusok (azaz a baktériumok) kiválasztását is.

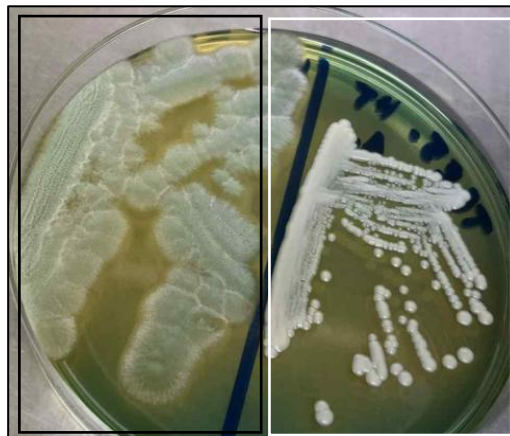
A WL agar szelektív-differenciáló táptalajként lehetővé teszi a különböző mikroorganizmusok morfológiai elkülönítését. Az agarral elvégzett vizsgálat sikerességét – a morfológiai elkülönítést - a következőkben példaként bemutatott ábrákkal kívánom

szemléltetni. Az első kísérleti lépéskor, az az izolálás során, a friss házitúró (HT) esetén a TGE agaron két hasonló telepet detektáltam, mely a 10. ábrán kerül bemutatásra. Ezen két, hasonló morfológiával rendelkező telep WL agaron történő differenciálásakor igen jól látható a különbség. A WL agarral elért eredményt pedig a 11. ábrán kívánom bemutatni.

10. ábra: Friss házi túróból (HT) izolált két hasonló morfológiájú telep TGE lemezen. A: alulnézetből, B: felülnézetből fényképezve (*Forrás: saját fénykép*)



11. ábra: Friss házi túróból (HT) izolált két hasonló morfológiájú telep differenciálása WL agaron. Bal oldalon az előző ábrán fekete körrel jelölt telep, jobb oldalon a fehér körrel jelölt telep (*Forrás: saját fénykép*)



A telep- és sejtmorfológia alapján kiválasztott izolátumok azonosítása MALDI-TOF MS módszerrel történt. A technika alapja, hogy a mikroorganizmusok fehérjemintázatát összehasonlítjuk egy referencia-adatbázissal, amely lehetővé teszi a gyors és pontos fajszerű azonosítást.

Az ábrán látható eredmények alapján fajszerű azonosítást sikerült elérni a 22, 25, 26, 27, 30 és 32-es kódszámú izolátumok esetében, mivel ezeknél a pontszám (*score*) értéke $\geq 2,00$

volt. Az azonosított fajok között szerepelt többek között számos élesztő is, melyek az 1, 4, 6, 11, 13, 17, 19, 20, 21 kódszám jelöl. Azonban a kutatás baktériumokra fókuszáló irányvonala miatt az élesztőgombák nem kerültek bevonásra az antibiotikum-rezisztencia vizsgálatba. A 23-as baktérium izolátum esetében a kapott *score* érték 1,95 volt, ami nemzetség szintű azonosítást tett lehetővé. Ezt az izolátumot a módszer *Enterococcus faecalis*-ként azonosította. A fajszerű megerősítéshez azonban további molekuláris vizsgálatokra lenne szükség, így ez a törzs nem szerepelt a további tesztek során.

Az azonosított baktérium törzsek közül tehát öt darab a *Lactobacillus* nemzetségbe tartozott, míg egy törzs az ecetsavbaktériumok közé sorolható (*Acetobacter* sp.). A kísérlet eredményei a 8. táblázatban olvashatók. A táblázat első oszlopa a termék megnevezése, amelyből az izolátum származik, az izolátum kódja, majd az azonosítás eredménye látható, élesztőként vagy baktériumként. Az utolsó oszlopában a *score*-érték látható a pontszámnak megfelelő azonosítási színnel. A zöld szín jelzi tehát azokat a mikroorganizmusokat, melyeket faj szinten biztosan sikerült azonosítani, így ezeket az eredményeket vizsgálva folytattam munkám. A sárga színnel jelöltek nemzetség szinten, míg a *score* értékhez tartozó oszlopban piros színnel jelölt értékek a megbízhatatlan eredményeket mutatja. A morfológiailag eltérőnek ítélt telepek faj szintű azonosítása során összesítve az alább szereplő táblázatban (8. táblázat) lévő mikrobákat, a következő eredmény született: erdélyi juhtúró – kettő élesztő és három baktérium, friss görögjoghurt – kettő baktérium, friss házi túró – öt élesztő, krémfehérsajt – kettő élesztő, szlovák juhtúró – négy élesztő és három baktérium, végezetül a krémsajt esetén nem volt sikeres az azonosítás.

8. táblázat: MALDI-TOF MS vizsgálati eredmény adatai

Termék	Kód	Azonosítás eredménye	Score érték
Krémsajt	1	<i>Pichia fermentans</i>	2,27
Krémsajt	2	-	1,40
Erdélyi juhtúró	3	-	1,56
Erdélyi juhtúró	4	<i>Geothricum candidum</i>	2,20
Erdélyi juhtúró	5	-	0,00
Erdélyi juhtúró	6	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	2,11
Erdélyi juhtúró	7	-	0,00
Krémsajt	8	-	1,33
Krémsajt	9	-	0,00
Krémsajt	10	<i>Kazachstania servazzii</i>	1,86
Szlovák juhtúró	11	<i>Kluyveromyces lactis</i>	2,12
Szlovák juhtúró	12	<i>Kluyveromyces lactis</i>	1,86
Szlovák juhtúró	13	<i>Yarrowia lipolytica</i>	2,13
Szlovák juhtúró	14	-	1,43
Szlovák juhtúró	15	<i>Debaryomyces hansenii</i>	1,81
Friss házi túró	16	-	0,00
Friss házi túró	17	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	2,43
Friss házi túró	18	<i>Geothricum candidum</i>	1,72
Friss házi túró	19	<i>Kluyveromyces lactis</i>	2,22
Friss házi túró	20	<i>Geothricum candidum</i>	2,05
Friss házi túró	21	<i>Geothricum candidum</i>	2,14
Erdélyi juhtúró	22	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,31
Erdélyi juhtúró	23	<i>Enterococcus faecalis</i>	1,95
Szlovák juhtúró	24	-	1,52
Szlovák juhtúró	25	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2,29
Friss görögjoghurt	26	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	2,20
Friss görögjoghurt	27	<i>Acetobacter indonesiensis</i>	2,42
Krémsajt	28	-	0,00
Friss házi túró	29	-	1,40
Erdélyi juhtúró	30	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>	2,32
Krémfehércsajt	31	-	0,00
Szlovák juhtúró	32	<i>Lactobacillus curvatus</i>	2,26
Friss görögjoghurt	33	-	0,00

A további vizsgálatokhoz, az alkalmazott tápközeg kiválasztását az izolált mikroorganizmusok növekedési igényeihez kellett igazítani. Az eredmények alapján a *Lactobacillus*-ok esetében az MRS agar bizonyult optimálisnak, míg az *Acetobacter* sp. számára a TGE tápközeg biztosította a megfelelő szaporodási feltételeket. A tápközeg kiválasztását korábbi tenyésztési tapasztalatok alapján végeztem, figyelembe véve a baktériumok metabolikus sajátosságait.

A sikeresen azonosított *Lactobacillus* baktériumtörzsek – 22, 25, 26, 30 és 32-es kódszámúak – képezték az antibiotikum-rezisztencia vizsgálat alapját. Az ezekkel végzett kísérlet eredményeit a következő alfejezetek részletezik.

4.2. A tejtermékekből izolált baktériumok fenotípusos antibiotikum-rezisztenciája

A vizsgálat során öt *Lactobacillus* törzs antibiotikum-érzékenységi profilja került meghatározásra tizenkét antibiotikum tekintetében, három párhuzamos mérés átlagértékei alapján. A törzsek különböző fermentált tejtermékekből származtak: *Lactobacillus plantarum* (JT és SZT), *Limosilactobacillus fermentum* (G), *Lacticaseibacillus paracasei* (JT), és *Lactobacillus curvatus* (SZT). Az értékelés a vonatkozó irodalmi zónaméret-határértékek alapján történt. A 9. táblázat foglalja össze, hogy a vizsgált törzsek a tizenkettő darab antibiotikum koronggal szemben, milyen feltisztulási zóna eredményeket produkáltak mm-ben megadva. A táblázat első három oszlopában láthatók az antibiotikumok, valamint az azokhoz tartozó zóna átmérő értékek (Narayanan és Raghavan, 2019). Ahol nincs számérték, ott nem volt detektálható zóna-átmérő, tehát azok egyből rezisztens besorolást kapnak. Az eredményeket a szakirodalmakkal összevetve a lentiekben kívánom bemutatni.

9. táblázat: Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat eredményei mm-ben a vizsgált baktériumokra

Antibiotikum	Értelmezési javaslat (mm)	Irodalmi zónaméret (mm)	Antibiotikum rezisztencia - átlagok mm-ben				
			JT - <i>Lactobacillus plantarum</i> (22)	SZT - <i>Lactobacillus plantarum</i> (25)	G - <i>Limosilactobacillus fermentum</i> (26)	JT - <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> (30)	SZT - <i>Lactobacillus curvatus</i> (32)
Tetraciklin	>20: érzékeny	20–30	25	31	43	45	40
Clindamicin	>18: érzékeny	18–24	45	15	48	35	55
Chloramphenicol	>20: érzékeny	20–28	37	47	49	49	47
Penicillin	>18: érzékeny	18–26	28	33	41	41	46
Streptomycin	<14: rezisztens	10–16	15	20	22	22	20
Kanamycin	<13: rezisztens	10–14	–	–	17	–	10
Vankomicin	<12: természetes rezisztencia	<10	–	–	–	–	–
Neomicin	<13: feltételezhető rezisztencia	8–14	9	12	11	–	10
Trimetoprim	>12: szokatlan	<10	40	31	39	–	–
Azitromicin	fajfüggő	10–16	23	27	38	34	29
Aztreonam	valószínűleg hatástalan	6–10	–	–	–	12	–
Oxacillin	nem jellemző	<10	–	–	–	–	–

A tetraciklin esetében az összes törzs érzékenynek bizonyult, a gátlási zónák 25 és 45 mm között alakultak. A legnagyobb zónaátmérőt a JT - *Lacticaseibacillus paracasei* törzs mutatta (45 mm), míg a JT - *Lactobacillus plantarum* törzs 25 mm-es zónával szintén érzékenynek minősült. A szakirodalom szerint a *Lactobacillus* nemzetségen belül a tetraciklinre adott

válaszok változatosak, ugyanis a legtöbb törzs érzékeny, azonban egyesekben rezisztencia is kimutatható. Tetraciklin-rezisztencia fenotípust a *L. plantarum* esetén mutattak ki (Campedelli et al., 2019). A vizsgálati eredménnyel ez nem mutat egyezést, azonban lényeges kiemelni, hogy a két eltérő termékből izolált *L. plantarum* baktérium esetén lettek a legalacsonyabbak a zóna-értékek, különösen a 22-es kódszámú törzs esetén, ahol nem sokkal lépi túl a rezisztenciába tartozó zóna méretet a kapott eredmény. Egy másik tanulmány LAB-okkal elvégzett rezisztencia vizsgálata során is a *L. plantarum* mutatott magasabb MIC- értéket a többi vizsgálat tárgyát képező LAB-hoz képest, valamint a *L. paracasei* mutatta a legkevésbé gyakori fenotípusos rezisztenciát (Ma et al., 2021). A *Lactobacillus* fajok tetraciklin-rezisztenciájának leggyakoribb genetikai meghatározói közé tartoznak a riboszomális védőfehérjéket kódoló *tet* (M) gén, valamint a tetraciklin-efflux pumpákat kódoló *tet* (K) gén. Korábbi vizsgálatok rámutattak arra, hogy egyes tetraciklinre érzékeny *Lactobacillus* törzsek olyan rezisztenciagéneket, mint a *tet* (K), *tet* (M) vagy *tet* (L), úgynevezett „néma” formában hordozzák, tehát ezek a gének transzkripció vagy transláció szinten nem aktívak, így nem fejtik ki hatásukat a fenotípusban (Anisimova et al., 2022).

A clindamicin esetében az érzékenységi határérték (> 18 mm) alapján törzsspecifikus különbségek voltak megfigyelhetők. A SZT - *L. plantarum* törzs 15 mm-es zónát mutatott, amely rezisztenciára utal, míg a JT - *L. plantarum* és különösen a *L. curvatus* magas érzékenységet jeleztek. A 22 és 25 kódszámú *L. plantarum* esetén két eltérő eredmény született, ugyanaz a faj, mégis eltérő az antibiotikum-rezisztencia profil. Ennek lehetséges oka lehet akár a genetikai háttérbeli különbség vagy akár az eltérő élelmiszer-mátrix is befolyásolhatta az eredményt. Vizsgálatok hasonló alacsony szintű rezisztenciát írtak le. Egy tanulmányban 182 *Lactobacillus* törzset vizsgáltak és mindössze 20 %-ában mutattak ki clindamicin-rezisztenciát, ugyanakkor több törzsben volt kimutatható az *lsa* gén, amely egy lincosamid-effluxfehérjét kódol és szerepet játszhat a clindamicin-rezisztencia kialakulásában (Campedelli et al., 2019). Vizsgálatok kimutatták a különböző forrásokból izolált laktobacillusokban a tetraciklinnel, chloramphenicol, eritromicinnel és clindamicinnel szembeni szerzett rezisztenciát. Mivel ezen antibiotikumokkal szembeni rezisztencia gyakran szerzett fennáll a veszélye annak, hogy a laktobacillusokról új gazdaszervezetekre terjednek át (Anisimova et al., 2022).

A laktobacillus fajok általában érzékenyek a fehérjeszintézis inhibitoraira (tetraciklin, eritromicin, chloramphenicol és linezolid) és β -laktámokra (penicillin és ampicillin) (Anisimova et al., 2022). Az eredményeim alátámasztják a fentiekben foglaltakat, ugyanis a chloramphenicolra az összes törzs érzékenynek bizonyult, különösen a *L. fermentum* és *L. paracasei*.

A penicillin esetében a vizsgált törzsek 28–46 mm közötti gátlási zónái egyértelmű érzékenységre utalnak. Az előbb leírtak, illetve szakirodalmi fejezeteimben általánosságban érzékenységet találtam különböző tanulmányokban, azonban vizsgálatok születtek arról is, hogy növekszik a *Lactobacillus*-ok esetén ezen antibiotikummal szemben szerzett rezisztenciájuk.

A kanamicin esetében egyedül a *L. fermentum* 17 mm-es zónája jelzett érzékenységet, az összes többi faj rezisztens, a legtöbb esetén gátlási zóna nem alakult ki, mely összhangban áll azzal, hogy a legtöbb *Lactobacillus* faj belsőleg rezisztens az aminoglikozidokkal (kanamicin, streptomycin, gentamicin és neomicin) szemben (Campedelli et al., 2019).

Azonban a streptomycin esetében minden törzs érzékenynek bizonyult, ez viszont ellentmond a fentebbi megállapításnak. Az eltérés hatterében több tényező lehet. Egyes tanulmányok szerint az aminoglikozidok koncentrációfüggő baktericid hatással rendelkeznek (Vakulenko és Mobashery, 2003). Az általam használt streptomycin korong 300 µg koncentrációjú volt. Egy vizsgálat antimikrobiális érzékenységi teszt során kapott MIC-értékei szerint, a *Lactobacillaceae* családba tartozó törzsek 26,3 %-ában (5/19) volt megfigyelhető rezisztencia a streptomycinre. A genotípusos vizsgálat azonban az előforduló rezisztens törzsek ellenére, egyetlen genomban sem mutatta ki aminoglikozidokkal szembeni rezisztenciát okozó géneket. Valamint a tanulmány azt is leírja, hogy az inkubációs idő befolyásolja a MIC-értéket, ami gyakran a törzs besorolásának megváltozásához vezet érzékenyből (24 óra inkubáció után leolvasva) rezisztensbe (48 óra elteltével leolvasva) (Dec et al., 2025). Az eltérés az aminoglikozid-rezisztenciát kódoló gének típusának és működésének különbségeiből is fakadhat, a fentiekben leírtak értelmében számos tényező befolyásolhatja, hogy egy baktérium törzs rezisztens vagy érzékeny.

A vankomicin esetében egyik törzs sem mutatott gátlási zónát, amely a számos *Lactobacillus* fajra jellemző belső (*intrinsic*) rezisztenciát tükrözi. Ez a jelenség vankomicin-rezisztencia egyik fő mechanizmusa, a célhely mutációval magyarázható, amikor is a vankomicin kötődési affinitása, hatékonysága csökken a D-alanin helyett terminális D-laktát vagy D-szerint helyettesítésével (Devirgiliis et al., 2013). Továbbá szakirodalmi fejezeteimben tanulmányok alapján tett megállapítások többsége is vankomicin rezisztenciát állapított meg.

Neomicin esetében a törzsek rezisztensnek bizonyultak. Ez megfelel a szakirodalomban közölt természetes rezisztenciával, amelyet több tanulmány is alátámaszt (Anisimova et al., 2022).

A trimetoprimre valamennyi törzs érzékeny volt (*L. plantarum* (22) és (25) és *L. fermentum*), azonban kettő vizsgált baktérium törzsem rezisztens volt. Szakirodalomban foglaltak szerint, a

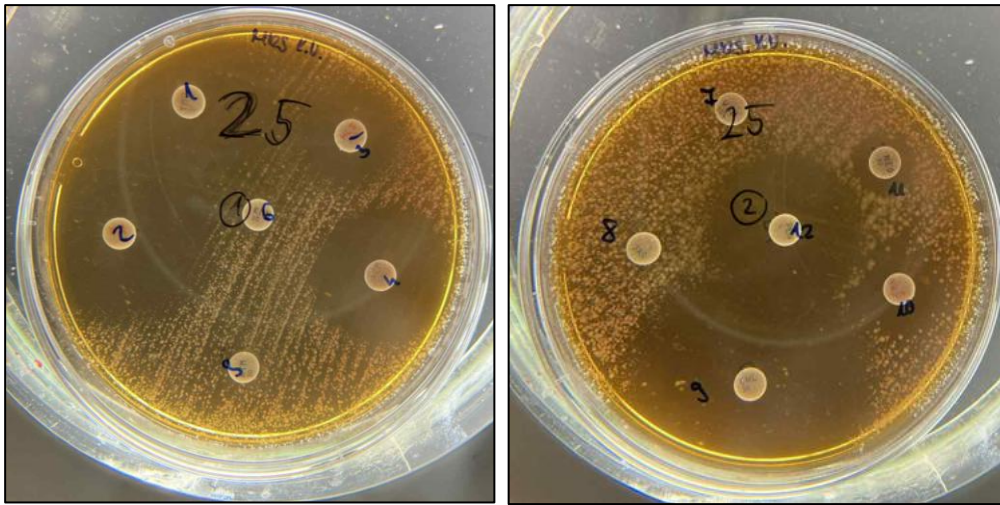
legtöbb *Lactobacillus* fajról kimutatható, hogy magas szintű belső rezisztenciát mutat a diaminopirimidin (trimetoprim) antibiotikummal szemben. A rezisztenciát általában a dihidrofolát-reduktázt (DHFR) kódoló *dhfr* gének okozzák (Moradi et al., 2022). Feltételezhető, hogy az említett gén nem volt jelen a 22, 25 és 26 kódszámú törzsekben.

Azitromicinre az öt darab vizsgált törzs mindegyike esetén érzékenység volt megfigyelhető, különösen a *L. fermentum* törzs esetében. Vizsgálatok születtek arról, hogy a makrolidokra a legtöbb *Lactobacillus* törzs érzékeny.

Az aztreonam esetében minden vizsgált törzs rezisztensnek bizonyult ahogy az oxacillin esetében is, mely összhangban áll szakirodalmi adatokkal. Nunziata és munkatársai (2022) szintén kimutatták, hogy tejtermékekből izolált *Lactobacillus* törzsek többsége béta-laktám antibiotikumokkal, így az oxacillinnel és cefalosporinokkal szemben is ellenálló.

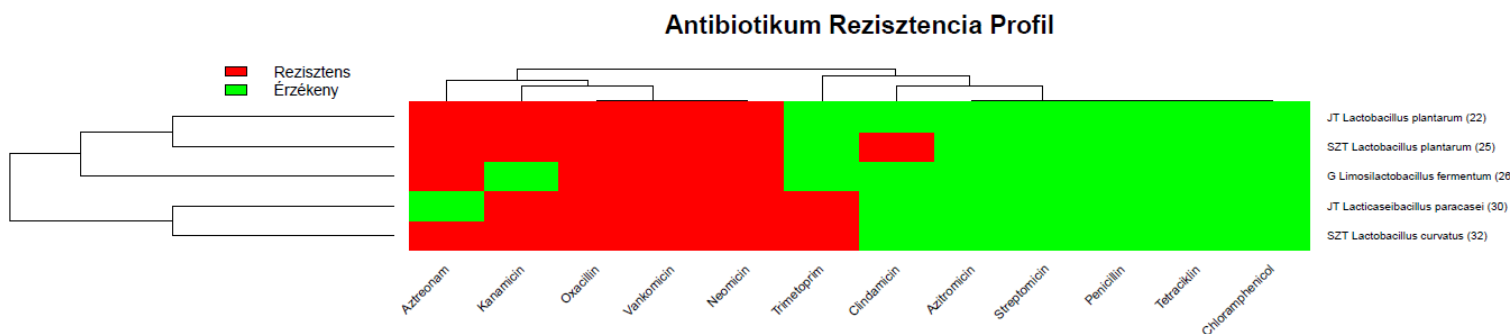
Az eredmények rámutatnak arra, hogy a fermentált tejtermékekből izolált törzsek antibiotikum-érzékenységi profilja fajoként jelentős különbségeket mutathat. Ezen értékeket számos tényező befolyásolhatja, többek között a tenyésztési körülmények, az alkalmazott antibiotikumok koncentrációja, valamint a vizsgált törzsek genetikai sajátosságai és eltérő genotípusa.

12. ábra: A *Lactobacillus plantarum* (25) antibiotikum-rezisztencia vizsgálatának eredményei. Az első képen 1-6-ig sorszámozott antibiotikum korongok, láthatók. A második képen a 7–12. jelölt antibiotikum korongok szerepelnek. (Forrás: saját fénykép)



Példaként bemutatva, a 12. ábrán látható gátlási zónák átmérői jól szemléltetik az egyes antibiotikumokra adott eltérő érzékenységi mintázatokat. Az első képen 1-6-ig sorszámozott antibiotikum korongok, láthatók, sorrendben: 1 – trimetoprim, 2 – tetraciklin, 3 – aztreonam, 4 – azitromicin, 5 – streptomycin, 6 – kanamicin. A második képen a 7–12. korongok szerepelnek, sorrendben: 7 – vankomicin, 8 – oxacillin, 9 – chloramphenicol, 10 – clindamicin, 11 – neomicin, 12 – penicillin. A feltisztulási zónák alapján megfigyelhető, hogy a *Lactobacillus plantarum* (25) – szlovák juhtúróból (SZT) izolált - törzs több antibiotikumra, köztük a tetraciklinre, chloramphenicolra, penicillinre, streptomycinre, trimetoprimre és azitromicinre érzékenységet mutatott, míg a clindamicinre, kanamicinre, vankomicinre, neomicinre, oxacillinre és aztreonamra nem alakult ki gátlási zóna, ami rezisztenciára utal.

13. ábra: Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat eredményei HeatMap formában ábrázolva



A HeatMap (13. ábra) szemléletesen összegzi az öt vizsgált tejsavbaktérium törzs antibiotikum-érzékenységi mintázatát, a mért gátlási zónák nagyságának és érzékenységi kategóriák vizuális eloszlásának alapján. Amint az az ábráról jól látható, a vizsgált baktériumok

mindegyike különálló törzset reprezentál, azaz antibiotikum érzékenységük alapján fenotípusosan elkülönülnek egymástól még az azonos fajba tartozó törzsek is.

Az ábrán látható rezisztencia- és érzékenységi mintázatok összhangban vannak a korábban ismertetett eredményekkel. A hőtérkép jól ábrázolja az egyes antibiotikumokra kapott értékek eloszlását: balról jobbra haladva megfigyelhető, hogy a vizsgált törzsek az antibiotikumok első csoportjára (trimetoprimig bezárólag) jellemzően rezisztenciát mutattak, míg az ábra második felében egyértelmű, egységes érzékenységi zónák láthatók néhány kivételes esettel. Az ábra jól tükrözi, hogy az oxacillinre, vankomicinre, neomicinre minden vizsgált törzs rezisztens volt, az azitromicinre, streptomycinre, penicillinre, tetraciklinre, chloramphenicolra pedig mind érzékenységet mutatott. Az intrinszik rezisztencia olyan genetikailag meghatározott természetes rezisztencia, amely a fajra vagy nemzetségre általánosan jellemző és nem-mozgó genetikai elem (pl. plazmidon, transzpozonon) található, azaz nem terjed horizontálisan más baktériumokra. A tejsavbaktériumoknál ez főként sejtfal-, membrán- és riboszómastruktúrából ered. Az aminoglikozidok (gentamicin, kanamicin, streptomycin, neomicin, tobramicin), a glikopeptidok (vancomycin, teicoplanin), a kinolonok (ciprofloxacín, nalidixinsav), a metronidazol, a polimixinek (colistin), valamint a sulfonamidok és a trimetoprim esetén a legtöbb tejsavbaktérium rezisztenciát mutat, amelyek nagyon gyakran intrinszik úton alakulnak ki (Campedelli et al. 2019, EFSA 2012, Danielsen és Wind 2003, Gueimonde et al. 2013).

4.3. A molekuláris tipizálás eredménye

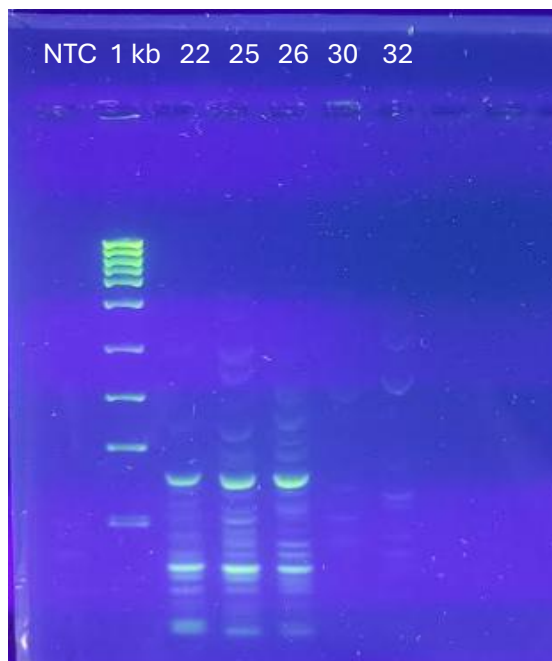
A RAPD-PCR reakció eredménye részben lett sikeres, ugyanis három izolátum esetében jól értékelhető ujjlenyomatok születtek, míg két izolátumnál gyenge ampikonok generálódtak, így azok értékelése nem egyszerű. A 13. ábrán látható gélképen a sorrend a következő: no template control (NTC), azaz negatív kontroll (nem tartalmaz DNS-t csak ddH₂O-t), 1 kb-os molekula méretmarker, majd az izolátumok növekvő számsorrendben. Az első oszlopban látható, hogy az NTC nem adott jelet, ami azt mutatja, hogy nem volt kontamináció. A következő oszlopban a méretmarker jól látható lépcsőzetes mintázatot ad, mely segít a sávok méretének meghatározásában. A kódszámozott baktérium törzsek esetén zárójelben láthatók, hogy az adott törzs melyik élelmiszermintához tartozik. Az eredmények azt mutatják, hogy a 22, 25, 26 kódszámú törzsek több erős sávot adtak, tehát ezek esetén sikeres volt az amplifikáció és jól értékelhető ujjlenyomatot generáltak (14. ábra). A mintázatok alapján megfigyelhető, hogy a két *Lactobacillus plantarum* ujjlenyomata nagy hasonlóságot mutat a *Limosilactobacillus fermentum* mintázatával, míg a 30 és 32 számozású törzsek halvány ampikonokat mutatnak a gélképen, ezért esetükben nehezebb az eredmények értékelése. A

RAPD módszer esetén nem ritka, hogy míg egyes törzsek tipizálhatók egy bizonyos primerrel, addig más törzsek nem adnak amplikonokat ugyanazon oligonukleotid alkalmazása során. Ebben az esetben további primerek bevonása szükséges a pontosabb jellemzés végett.

Végső soron megállapítható, hogy a D8635-ös primerrel a *Lactobacillus plantarum* és a *Limosilactobacillus fermentum* fajok nem egyértelműen különíthetők el egymástól, míg az izolált *Lacticaseibacillus paracasei* és a *Lactobacillus curvatus* fajokba tartozó törzsek genetikailag eltérnek, azaz nincs köztük klonális kapcsolat.

Az eredményeim megerősítik Johansson és munkatársai (1995) megállapítását, miszerint a *Lactobacillus* törzsek RAPD-PCR módszerrel történő tipizálása nehézkes, mivel a módszer rendkívül függ a reakciókörülményektől.

14. ábra: RAPD-PCR reakció során kapott gélekép. Balról jobbra a következők láthatók: NTC – negatív kontroll, 1 kb – 1 kb-os molekula méretmarker, 22 - *Lactobacillus plantarum* (JT), 25 - *Lactobacillus plantarum* (SZT), 26 - *Limosilactobacillus fermentum* (G), 30 – *Lacticaseibacillus paracasei* (JT), 32 – *Lactobacillus curvatus* (SZT). (Forrás: saját fénykép)



12. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A kutatásom során született eredményekből levonható egyértelmű következtetés, hogy a vizsgálat tárgyát képező fermentált tejtermékek mikrobiálisan igen változatosak. A kísérletem fő témáját megelőzően, számos előkészítő lépést kellett elvégezni. Az izolálási folyamatok során morfológiailag jelentősen eltérő telepeket sikerült detektálnom, amelyek az élesztők és baktériumok nagyfokú diverzitását jelezték. A MALDI-TOF MS módszerrel faj szinten is azonosítottam a mintákban jelen lévő mikrobákat. A vizsgáltba bevont fermentált tejtermékekre eltérő mikrobiológiai sokféleség volt jellemző. Ezen megállapítás háttérében többfajta tényező is állhat, ide tartozhat a termék feldolgozottságának kérdése is, mely gyártástechnológia alapvetően befolyásolja egy termék mikrobiális diverzitását (Zheng et al., 2021). A MALDI-TOF MS módszerrel azonosított baktériumok többsége tejsavbaktériumnak bizonyult (*Lactobacillus plantarum* erdélyi juhtúróból és szlovák juhtúróból, *Lacticaseibacillus paracasei* erdélyi juhtúróból, *Limosilactobacillus fermentum* friss görögjoghurtból, és *Lactobacillus curvatus* szlovák juhtúróból), mely összhangban áll a szakirodalmi kutatásokkal.

Az antibiotikum-rezisztencia vizsgálatok a fentebb felsorolt öt kiválasztott törzs 12 különböző antibiotikum koronggal szemben eltérő eredményeket mutatott. Az izolátumok közül valamennyi rezisztens volt vankomicinre, neomicinre és oxacillinre, ami megfelel a tejsavbaktériumok körében gyakran leírt természetes vagy belső (*intrinsic*) rezisztenciának. Ugyanakkor az azitromicinre, penicillinre, tetraciklinre és chloramphenicolra több törzs is érzékenynek bizonyult, ami hatékonyságukat mutatja a vizsgált LAB-ok többségével szemben. A szakirodalmi fejezetben tárgyalt egyes tanulmányok azonban azt állapították meg, hogy a gyakorta alkalmazott penicillinnel és tetraciklinnel szemben a szerzett rezisztencia egyre jellemzőbb a vizsgált baktériumok körében (Kiskó et al., 2025). Az általam vizsgált baktériumokra tehát ez nem volt jellemző, az eredményeim ellentmondanak a szakirodalmi adatoknak. A clindamicin esetén érzékenység volt megfigyelhető, így a vizsgált törzseimmel szemben továbbra is hatásos szer lehet. Ezt a tényt érdemes kiemelni, mivel a szakirodalomban írnak ezen típusra jellemző szerzett rezisztencia kialakulásáról (Kiskó et al., 2025). Figyelemre méltó, hogy a két különböző forrásból izolált *Lactobacillus plantarum* törzsek – annak ellenére, hogy ugyanazon fajhoz tartoztak – eltérő antibiotikum-érzékenységi mintázatot mutattak. Ez a jelenség valószínűsíthetően törzsszintű genetikai eltérésekre, vagy az antibiotikumok hatására adott eltérő génexpressziós mintázatra vezethető vissza. A streptomycin és kanamicin aminoglikozid típusú antibiotikumokkal szemben eltérő eredmények születtek, utóbbi esetén rezisztencia volt a jellemző. Az aminoglikozid típusú antibiotikumokra természetes rezisztencia

a jellemző (Gueimonde et al., 2013). A streptomycinre, mely szintén ezen csoportba sorolandó, ezzel ellentétben érzékenység volt tapasztalható. Elképzelhető, hogy a vizsgált törzsek eltérő sejtfalszerkezeti tulajdonsággal rendelkeznek, esetleg sejtfalszerkezetük miatt könnyebben hozzáférhető a célhely, vagy az antibiotikum alkalmazott koncentrációja is befolyásolhatta az eredményt, illetve akár olyan tényező is, mint az inkubálás ideje (Dec et al., 2025). A trimetoprimra legtöbb esetben szenzitivitás volt jellemző, míg az aztreonam esetében rezisztencia alakult ki. Összességében levonható az a következtetés, hogy a különféle szakirodalmakban is leírt, gyakran alkalmazott antibiotikumokkal szembeni rezisztencia/érékenység eredmények nagyrészt összhangban álltak az általam kapott eredményekkel. Ez tehát azt jelenti, hogy a vizsgált tejsavbaktérium-törzsek esetében a jellemző, korábban is megfigyelt antibiotikum-rezisztencia- és érzékenységi mintázatok a legtöbb esetben ismét igazolást nyertek. A vizsgálati módszereim megfelelően reprodukálják a tanulmányokban megfigyelt tendenciákat néhány kivétellel, melyek esetében a különbségek okainak feltárása további kutatások szükségesek.

A RAPD-PCR módszer során kapott eredményekből levonható a következtetés, miszerint a különböző izolátumaim között szerepelnek olyanok, amelyek eltérő genetikai ujjlenyomattal jellemezhetők, ezáltal a törzsek genetikai sokféleségére ad bizonyosságot. Ugyanakkor a vizsgált öt törzs közül kettő esetén nehezebb volt a mintázatok értékelése, mely a módszer korlátjaira, így például a gyenge amplifikációra mutat rá. Mindezek alapján elmondható, hogy nagyobb felbontású molekuláris biológiai módszerek, mint például a teljes genom szekvenálás, tovább növelhetik az eredmények megbízhatóságát. Az izolátumok további genotípusos vizsgálata szükséges tehát az azonosított törzsek rezisztencia profiljának összehasonlítása érdekében.

A jövőben érdekes lenne a dolgozat szakirodalmi részében vizsgált transzkonjugációs kísérlet elvégzése is, mely kiemelt szerepet kap az élelmiszerláncon belüli antibiotikum-rezisztencia terjedésének feltérképezésében. A horizontális géntranszfer folyamatainak részletes vizsgálata hozzájárulhat ahhoz, hogy képet kapjunk a rezisztencia gének átadásáról a tejsavbaktériumok esetén. A diplomamunkám során vizsgált izolátumokban potenciálisan jelen lévő rezisztenciagének és ezek átadási lehetősége indoklást ad az élelmiszerlánc mikrobiológiai biztonságának további vizsgálatára és megelőzési stratégiák kidolgozására a rezisztencia terjedésének megelőzésére.

13. ÖSSZEFOGLALÁS

Diplomamunkám központi témája a fermentált tejtermékekből izolált baktériumok antibiotikum-rezisztenciájának vizsgálata volt. A termék választásom háttérében az említett élelmiszerek egészségügyi előnye miatti gyakori fogyasztásuk állt. A kutatás indítékát pedig a napjainkban nagy szerepet kapott antibiotikum-rezisztencia problémája adta, mivel az antimikrobás szerek helytelen és túlzott mértékű alkalmazása világszerte hozzájárul a rezisztens baktériumtörzsek megjelenéséhez. Ez a probléma az élelmiszer-láncon keresztül is megjelenhet. Fő célom, tehát az volt, hogy megvizsgáljam különféle fermentált tejtermékekben jelen lévő mikroorganizmusok különböző antibiotikumokkal szembeni rezisztenciáját.

Az említett kísérleti lépés felvezetése érdekében a mintákból izolálni, majd pedig azonosítani kellett a bennük jelen lévő mikroorganizmusokat. A baktériumok között döntő többségben a tejsavbaktériumok szerepeltek. A fermentációs folyamatban kulcsszerepet játszó mikrobák potenciálisan antibiotikum rezisztencia géneket hordozhatnak.

Első lépésben a termékekből különféle táptalajokat alkalmazva tenyésztéses módszerrel izoláltam a bennük megtalálható domináns mikroorganizmusokat. A makromorfológiai jellemzőik alapján különbözőnek ítélt telepeket mikroszkópos vizsgálatoknak is alávettem, mellyel már előzetesen sikerült elkülönítenem az élesztő és baktérium telepeket. Mivel kutatásom során csak a baktériumokra szerettem volna koncentrálni, ezekkel a lépésekkel lehetővé vált a gombák kizárása a potenciálisan analizálandó mikrobák közül. A szelektív tápközegek segítségével nyert izolátumok MALDI-TOF MS technikával faj szinten azonosításra kerültek, mely egy gyors és megbízható mikroba identifikációs módszerként ismert. Az azonosított törzsekkel elvégeztem a fenotípusos antibiotikum-rezisztencia vizsgálatot korongdiffúziós módszer segítségével. A tizenkét féle antibiotikum korongra adott érzékenységi/rezisztencia válaszok változóak voltak, amely a vizsgált élelmiszercsoportban előforduló mikrobák sokféleségét tükrözi. Megállapítható, hogy az általam vizsgált fermentált termékekből származó tejsavbaktériumok bár többféle antibiotikummal szemben rezisztenciát mutattak, a legtöbb közülük intrinszik rezisztencia, amely nem adható át horizontális géntranszfer útján más baktériumoknak, így kevés veszélyt hordoz magában ezen tejsavbaktériumok jelenléte és előfordulása a tejtermékekben. A RAPD-PCR vizsgálattal kapott eredmények megerősítették az izolátumok genetikai variabilitását, így tehát összefüggés mutatkozott a geno- és fenotípusos tulajdonságok között. A kísérlet során alkalmazott módszerek megbízhatóak voltak, mivel a kapott eredmények nagyrészt összhangban voltak

szakirodalomban közölt adatokkal. A rezisztencia gének átadásának vizsgálatára a transzkonjugációs kísérleti módszer potenciális következő lépés lehet.

A kutatásom témájában kapott eredmények alátámasztják, hogy a fogyasztók körében nagy népszerűséggel rendelkező fermentált tejtermékekben előforduló baktériumok vizsgálata kiemelten fontos szerepet kell, hogy kapjon az antibiotikumok témaköréhez tartozó élelmiszer-biztonsági kockázatok felderítésében.

14. IRODALOMJEGYZÉK

1. Andrighetto, C. - Zampese, L. - Lombardi, A. (2001): RAPD-PCR characterization of lactobacilli isolated from artisanal meat plants and traditional fermented sausages of Veneto region (Italy). *Letters in Applied Microbiology*, 33(1), 26-30. DOI: 10.1046/j.1472-765X.2001.00939.x
2. Anisimova, E. - Gorokhova, I. - Karimullina, G. - Yarullina, D. (2022): Alarming antibiotic resistance of lactobacilli isolated from probiotic preparations and dietary supplements. *Antibiotics*, 11(11), 1557. DOI: [10.3390/antibiotics11111557](https://doi.org/10.3390/antibiotics11111557)
3. Aşkun, T. - Eltem, R. - Taşkın, E. (2007): Comparison of rose-bengal chloramphenicol agar and dichloran glycerol agar (DG18) for enumeration and isolation of moulds from raisins. *Journal of Applied Biological Sciences*, 1(2), 71-74. Year 2007, Volume: 1 Issue: 2, 71 - 74, 01.07.2007
4. Belák, Á. (2009): Élelmiszer-biztonsági szempontból jelentős baktériumok kimutatása, PCR-alapú molekuláris azonosítása és tipizálása (Doctoral dissertation, Budapesti Corvinus Egyetem).
5. Bintsis, T. - Papademas, P. (2022): The evolution of fermented milks, from artisanal to industrial products. A critical review. *Fermentation*, 8(12), 679. DOI: [10.3390/fermentation8120679](https://doi.org/10.3390/fermentation8120679)
6. Campedelli, I. - Mathur, H. - Salvetti, E. - Clarke, S. - Rea, M. C. - Torriani, S. – Ross, R. P. – Hill, C. - O’Toole, P. W. (2019): Genus-wide assessment of antibiotic resistance in *Lactobacillus* spp. *Applied and environmental microbiology*, 85(1), e01738-18. DOI: [10.1128/AEM.01738-18](https://doi.org/10.1128/AEM.01738-18)
7. Chaves, C. R. S. - Salamandane, A. - Vieira, E. J. F. - Salamandane, C. (2024). Antibiotic Resistance in Fermented Foods Chain: Evaluating the Risks of Emergence of Enterococci as an Emerging Pathogen in Raw Milk Cheese. *International Journal of Microbiology*, 2024(1), 2409270. DIO: [10.1155/ijm/2409270](https://doi.org/10.1155/ijm/2409270)
8. Chuenaem, S. - Jaichuen, C. - Wongwas, S. - Subsoontorn, P. (2025). Conjugative Transfer from *Escherichia coli* to Gram-positive Bacteria: A Systematic Review and Meta-Analysis. bioRxiv, 2025-03. DOI: [10.1101/2025.03.11.642732](https://doi.org/10.1101/2025.03.11.642732)
9. Codex Alimentarius Commission. (2018). *Standard for Fermented Milks* (CXS 243-2003, Rev. 2018). FAO/WHO

10. Danielsen, M. - Wind, A. (2003): Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. *International journal of food microbiology*, 82(1), 1-11. DOI: [10.1016/S0168-1605\(02\)00254-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00254-4)
11. Dec, M. - Herman-Ostrzyżek, K. - Zomer, A. - Urban-Chmiel, R. (2025): Susceptibility of Lactobacillaceae Strains to Aminoglycoside Antibiotics in the Light of EFSA Guidelines. *Life*, 15(5), 732. DOI: [10.3390/life15050732](https://doi.org/10.3390/life15050732)
12. Devirgiliis, C. - Zinno, P. - Perozzi, G. (2013): Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. *Frontiers in microbiology*, 4, 301. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00301](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00301)
13. EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2012): Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10(6), 2740. DOI: [10.2903/j.efsa.2012.2740](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2740)
14. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2011): Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *EFSA Journal*, 9(8), 2322. DOI: [10.2903/j.efsa.2011.2322](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2322)
15. Fernández, M. - Hudson, J. A. - Korpela, R. - de los Reyes-Gavilán, C. G. (2015): Impact on human health of microorganisms present in fermented dairy products: an overview. *BioMed research international*, 2015(1), 412714. DOI: [10.1155/2015/412714](https://doi.org/10.1155/2015/412714)
16. Frieri, M. - Kumar, K. - Boutin, A. (2017): Antibiotic resistance. *Journal of infection and public health*, 10(4), 369-378. DOI: [10.1016/j.jiph.2016.08.007](https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007)
17. Gueimonde, M. - Sánchez, B. - G. de los Reyes-Gavilán, C. - Margolles, A. (2013): Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in microbiology*, 4, 202. DOI: [10.3389/fmicb.2013.00202](https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00202)
18. Guidone, A. - Braghieri, A. - Cioffi, S. - Claps, S. - Genovese, F. - Morone, G. - Napolitano, F. - Parente, E. (2015): Effect of adjuncts on microbiological and chemical properties of Scamorza cheese. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1467-1478. DOI: [10.3168/jds.2014-8554](https://doi.org/10.3168/jds.2014-8554)
19. György É (2021): *Általános mikrobiológia*. Jegyzet. Kolozsvár: Scientia Kiadó. [Elektronikus kiad.] Letöltés dátuma: 2025. 10. 21. Forrás: <http://real.mtak.hu/id/eprint/127115>

20. Hahn, M. W. - Koll, U. - Schmidt, J. (2019): Isolation and cultivation of bacteria. In *The structure and function of aquatic microbial communities* (pp. 313-351). Cham: Springer International Publishing. DOI: [10.1007/978-3-030-16775-2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16775-2)
21. Hamdaoui, N. - Benkirane, C. - Bouaamali, H. - Azghar, A. - Mouncif, M. - Maleb, A. – Hammouti, B. – Al-Anazi, K. M. – Kumar, Pankaj. – Yadav, K. K. – Choi, J. R. - Meziane, M. (2024): Investigating lactic acid bacteria genus *Lactococcus lactis* properties: Antioxidant activity, antibiotic resistance, and antibacterial activity against multidrug-resistant bacteria *Staphylococcus aureus*. *Heliyon*, 10(11). DOI: [10.1016/j.heliyon.2024.e31957](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e31957)
22. Hou, J.- Long, X. - Wang, X. - Li, L. - Mao, D. - Luo, Y. - Ren, H. (2023): Global trend of antimicrobial resistance in common bacterial pathogens in response to antibiotic consumption. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130042. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2022.130042](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130042)
23. Johansson, M. L. - Quednau, M. - Molin, G. - Ahrné, S. (1995): Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) for rapid typing of *Lactobacillus plantarum* strains. *Letters in Applied Microbiology*, 21(3), 155-159. DOI: [10.1111/j.1472-765X.1995.tb01030.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.1995.tb01030.x)
24. Katana, A. (2021): The transfer of chromosomal genes through bacterial conjugation in *Escherichia coli*.
25. Kiskó, G. - Bajramović, B. - Elzhras, F. - Erdei-Tombor, P. - Dobó, V. - Mohácsi-Farkas, C. - Taczman-Brückner, A. - Belák, Á. (2025): The Invisible Threat of Antibiotic Resistance in Food. *Antibiotics*, 14(3), 250. DOI: [10.3390/antibiotics14030250](https://doi.org/10.3390/antibiotics14030250)
26. Klein, E. Y. - Impalli, I. - Poleon, S. - Denoel, P. - Cipriano, M. - Van Boeckel, T. P. – Pecetta, S. - Bloom, D. E. - Nandi, A. (2024): Global trends in antibiotic consumption during 2016–2023 and future projections through 2030. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 121(49), e2411919121. DOI: [10.1073/pnas.2411919121](https://doi.org/10.1073/pnas.2411919121)
27. Kosterlitz, O. - Huisman, J. S. (2023): Guidelines for the estimation and reporting of plasmid conjugation rates. *Plasmid*, 126, 102685. DOI: [10.1016/j.plasmid.2023.102685](https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2023.102685)
28. Kumari, N. - Thakur, S. K. (2014): Randomly amplified polymorphic DNA-a brief review. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 9(1), 6-13. DOI: [10.3844/ajavssp.2014.6.13](https://doi.org/10.3844/ajavssp.2014.6.13)
29. Lee, H. M. - Lee, Y. (2008): A differential medium for lactic acid-producing bacteria in a mixed culture. *Letters in Applied Microbiology*, 46(6), 676-681. DOI: [10.1111/j.1472-765X.2008.02371.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02371.x)

30. Li, W. - Wu, Q. - Kwok, L. Y. - Zhang, H. - Gan, R. - Sun, Z. (2024): Population and functional genomics of lactic acid bacteria, an important group of food microorganism: Current knowledge, challenges, and perspectives. *Food Frontiers*, 5(1), 3-23. DOI: [10.1002/fft2.321](https://doi.org/10.1002/fft2.321)
31. Liu, G. - Thomsen, L. E. - Olsen, J. E. (2022): Antimicrobial-induced horizontal transfer of antimicrobial resistance genes in bacteria: a mini-review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(3), 556-567. DOI: [10.1093/jac/dkab450](https://doi.org/10.1093/jac/dkab450)
32. Lopatkin, A. J. - Huang, S. - Smith, R. P. - Srimani, J. K. - Sysoeva, T. A. - Bewick, S. - Karig, D. - You, L. (2016): Antibiotics as a selective driver for conjugation dynamics. *Nature microbiology*, 1(6), 1-8. DOI: [10.1038/nmicrobiol.2016.44](https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.44)
33. Ma, Q. - Pei, Z. - Fang, Z. - Wang, H. - Zhu, J. - Lee, Y. K. - Zhang, H. - Zhao, J. - Lu, W. - Chen, W. (2021): Evaluation of tetracycline resistance and determination of the tentative microbiological cutoff values in lactic acid bacterial species. *Microorganisms*, 9(10), 2128. DOI: [10.3390/microorganisms9102128](https://doi.org/10.3390/microorganisms9102128)
34. Moradi, J. - Fathollahi, M. - Halimi, S. - Alvandi, A. - Abiri, R. - Vaziri, S. - Rezaei, A. (2022): Characterization of the resistome in *Lactobacillus* genomic sequences from the human gut. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 30, 451-458. DOI: [10.1016/j.jgar.2022.05.014](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.05.014)
35. Mukarromah, T. A. - Rustanti, N. - Mahati, E. - Suparmi - Ayustaningwarno, F. (2025): The Impact of Fermented Milk Products on Gut Microbiota-Derived Metabolites in Obesity: A Narrative Review. *Journal of Food Science*, 90(6), e70301. DOI: [10.1111/1750-3841.70301](https://doi.org/10.1111/1750-3841.70301)
36. Narayanan, R. - Raghavan, K. T. (2019): Antibiotic susceptibility profile of lactic acid bacteria with probiotic potential isolated from humans. *Biomed J Sci Tech Res*, 17(4), 12964-6. DOI: [10.26717/BJSTR.2019.17.003003](https://doi.org/10.26717/BJSTR.2019.17.003003)
37. Nunziata, L. - Brasca, M. - Morandi, S. - Silveti, T. (2022): Antibiotic resistance in wild and commercial non-enterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria strains of dairy origin: An update. *Food Microbiology*, 104, 103999. DOI: [10.1016/j.fm.2022.103999](https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.103999)
38. Ortiz-Rivera, Y. - Sánchez-Vega, R. - Gutiérrez-Méndez, N. - León-Félix, J. - Acosta-Muñiz, C. - Sepulveda, D. R. (2017): Production of reuterin in a fermented milk product by *Lactobacillus reuteri*: Inhibition of pathogens, spoilage microorganisms, and lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*, 100(6), 4258-4268. DOI: [10.3168/jds.2016-11534](https://doi.org/10.3168/jds.2016-11534)

39. Pavlidou, S. - Bozoudi, D. - Hatzikamari, M. - Tzanetakis, N. - Litopoulou-Tzanetaki, E. (2011): Differentiation of Lactococci from 2 Greek Cheeses with Protected Designation of Origin by Phenotypic Criteria and RAPD-PCR. *Journal of Food Science* 76(3):175–83. DOI: [10.1111/j.1750-3841.2011.02043.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02043.x)
40. Qamar, M. U. - Aatika, Chughtai, M. I. - Ejaz, H. - Mazhari, B. B. Z. - Maqbool, U. - Alanazi, A. - Alruwaili, Y. - Junaid, K. (2023): Antibiotic-resistant bacteria, antimicrobial resistance genes, and antibiotic residue in food from animal sources: one health food safety concern. *Microorganisms*, 11(1), 161. DOI: [10.3390/microorganisms11010161](https://doi.org/10.3390/microorganisms11010161)
41. Qu, T. - Wang, P. - Zhao, X. - Liang, L. - Ge, Y. - Chen, Y. (2024): Metagenomics reveals differences in the composition of bacterial antimicrobial resistance and antibiotic resistance genes in pasteurized yogurt and probiotic bacteria yogurt from China. *Journal of Dairy Science*, 107(6), 3451-3467. DOI: [10.3168/jds.2023-23983](https://doi.org/10.3168/jds.2023-23983)
42. Quinto, E. J. - Jiménez, P. - Caro, I. - Tejero, J. - Mateo, J. - Girbés, T. (2014): Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(18), 1765-1775. DOI: [10.4236/fns.2014.518190](https://doi.org/10.4236/fns.2014.518190)
43. Rehman, K. - Fiayyaz, F. - Khurshid, M. - Sabir, S. - Akash, M. S. H. (2020): Antibiotics and antimicrobial resistance: temporal and global trends in the environment. In *Antibiotics and antimicrobial resistance genes in the environment* (pp. 7-27). Elsevier DOI: [10.1016/B978-0-12-818882-8.00002-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818882-8.00002-4)
44. Szulczer-Balog, V. - Salamon, P. (2023): A probiotikus baktériumok antibiotikum rezisztenciája: Antibiotic resistance of probiotic bacteria. *Műszaki Szemle*, 41-44.
45. Terzaghi, B. E. - Sandine, W. (1975): Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied microbiology*, 29(6), 807-813. DOI: [10.1128/am.29.6.807-813.1975](https://doi.org/10.1128/am.29.6.807-813.1975)
46. Toomey, N. - Monaghan, A. - Fanning, S. - Bolton, D. (2009): Transfer of antibiotic resistance marker genes between lactic acid bacteria in model rumen and plant environments. *Applied and environmental microbiology*, 75(10), 3146-3152. DOI: [10.1128/AEM.02471-08](https://doi.org/10.1128/AEM.02471-08)
47. Vakulenko, S. B. - Mobashery, S. (2003): Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clinical microbiology reviews*, 16(3), 430-450. DOI: [10.1128/cmr.16.3.430-450.2003](https://doi.org/10.1128/cmr.16.3.430-450.2003)
48. Verraes, C. - Van Boxstael, S. - Van Meervenue, E. - Van Coillie, E. - Butaye, P. - Catry, B. – De Schaetzen, M.-A. – Van Huffel, X. – Imberechts, H. – Dierick, K. – Daube, G.

- Saegerman, C. – De Block, J. – Dewulf, J. – Herman, L. (2013): Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International journal of environmental research and public health*, 10(7), 2643-2669. DOI: [10.3390/ijerph10072643](https://doi.org/10.3390/ijerph10072643)
49. Vinayamohan, P. G. - Viju, L. S. - Joseph, D. - Venkitanarayanan, K. (2023): Fermented foods as a potential vehicle of antimicrobial-resistant bacteria and genes. *Fermentation*, 9(7), 688. DOI: [10.3390/fermentation9070688](https://doi.org/10.3390/fermentation9070688)
50. Virolle, C. - Goldlust, K. - Djermoun, S. - Bigot, S. - Lesterlin, C. (2020): Plasmid transfer by conjugation in Gram-negative bacteria: from the cellular to the community level. *Genes*, 11(11), 1239. DOI: [10.3390/genes11111239](https://doi.org/10.3390/genes11111239)
51. Wu, V. C. H. - Fung, D. Y. C. (2001): Evaluation of thin agar layer method for recovery of heat-injured foodborne pathogens. *Journal of Food Science*, 66(4), 580-583. DOI: [10.1111/j.1365-2621.2001.tb04605.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04605.x)
52. Xie, Z. - McAuliffe, O. - Jin, Y. S. - Miller, M. J. (2024): Invited review: Genomic modifications of lactic acid bacteria and their applications in dairy fermentation. *Journal of Dairy Science*, 107(11), 8749-8764. DOI: [10.3168/jds.2024-24989](https://doi.org/10.3168/jds.2024-24989)
53. Zheng, X. - Shi, X. - Wang, B. (2021): A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. *Frontiers in Microbiology*, 12, 703284. DOI: [10.3389/fmicb.2021.703284](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.703284)
54. Zinno, P. - Calabrese, F. M. - Schifano, E. - Sorino, P. - Di Cagno, R. - Gobbetti, M. – Parente, E. – De Angelis, M. - Devirgiliis, C. (2022): FDF-DB: a database of traditional fermented dairy foods and their associated microbiota. *Nutrients*, 14(21), 4581. DOI: [10.3390/nu14214581](https://doi.org/10.3390/nu14214581)

INTERNETES HIVATKOZÁSOK:

1. World Health Organization. (2022): *GLASS manual for antimicrobial resistance surveillance in common bacteria causing human infection*. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240076600> Letöltés dátuma: 2025.10.13.

15. ÁBRAJEGYZÉK

1. ábra: Az antibiotikum-fogyasztás átlagos várható változása 2023–2030 között (Forrás: Klein et al., 2024).....	3
2. ábra: Az antibiotikumok fogyasztási különbségei (2016-2023 között). Az öt leggyakrabban fogyasztott antibiotikum-osztály (vízszintes tengely) esetében, az összes többi osztályt az „egyéb” kategóriába sorolva (Forrás: Klein et al., 2024).....	4
3. ábra: A fermentált élelmiszerekben előforduló AR baktériumok és gének emberi bélmikrobiótába való átvitele (Forrás: Vinayamohan et al., 2023)	12
4. ábra: Az antimikrobiális és bakteriális szennyeződés lehetséges útvonalai a sajtgyártás technológiai folyamatában, az állattenyésztéstől a feldolgozásig (Forrás: Chaves et al., 2024)	13
5. ábra: Nyers tehéntejből izolált <i>Lactococcus lactis</i> törzsek antibiotikum-rezisztenciája (Forrás: Hamdaoui et al., 2024)	15
6. ábra: A bakteriális rezisztencia-mechanizmus folyamatábrája (Forrás: Szulcz-Balog és Salamon, 2023).....	17
7. ábra: Horizontális géntranszfer (HGT) fő mechanizmusainak sematikus ábrázolása (Forrás: Liu et al., 2022)	18
8. ábra: A vizsgált fermentált tejtermékek. HT: friss házi túró, K: krémsajt, SZT: szlovák juhtúró, G: friss görögjoghurt, JT: erdélyi juhtúró és KFS: krémfehérsajt (Forrás: saját fényképek).....	23
9. ábra: Izolált baktériumok eltérő telepmorfológiája (Forrás: saját fényképek).....	31
10. ábra: Friss házi túróból (HT) izolált két hasonló morfológiájú telep TGE lemezen. A: alulnézetből, B: felülnézetből fényképezve (Forrás: saját fénykép)	33
11. ábra: Friss házi túróból (HT) izolált két hasonló morfológiájú telep differenciálása WL agaron. Bal oldalon az előző ábrán fekete körrel jelölt telep, jobb oldalon a fehér körrel jelölt telep (Forrás: saját fénykép).....	33
12. ábra: A <i>Lactobacillus plantarum</i> (25) antibiotikum-rezisztencia vizsgálatának eredményei. Az első képen 1-6-ig sorszámozott antibiotikum korongok, láthatók. A második képen a 7–12. jelölt antibiotikum korongok szerepelnek. (Forrás: saját fénykép).....	40
13. ábra: Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat eredményei HeatMap formában ábrázolva	40
14. ábra: RAPD-PCR reakció során kapott gélkép. Balról jobbra a következők láthatók: NTC – negatív kontroll, 1 kb – 1 kb-os molekula méretmarker, 22 - <i>Lactobacillus plantarum</i> (JT), 25 - <i>Lactobacillus plantarum</i> (SZT), 26 - <i>Limosilactobacillus fermentum</i> (G), 30 –	

Lacticaseibacillus paracasei (JT), 32 – Lactobacillus curvatus (SZT). (Forrás: saját fénykép)	42
---	----

16. TÁBLÁZATJEGYZÉK

1. táblázat: Felhasznált táptalajok funkció szerint	24
2. táblázat: MALDI-TOF MS vizsgálat során felhasznált anyagok funkció szerint	26
3. táblázat: Mikroorganizmusok azonosítása MALDI-TOF MS-sel a vizsgálati pontszámok alapján	27
4. táblázat: Mikroorganizmusok azonosítása MALDI-TOF MS-sel a vizsgálati pontszámok alapján	28
5. táblázat: Morfológiailag elkülönülő telepek száma agaronként (M17, RBC, TGE, mMRS-BPB) a mintákban (HT - friss házi túró, JT - erdélyi juhtúró, SZT - szlovák juhtúró, K – krémsajt, G – görögjoghurt, KFS - krémfehérsajt)	29
6. táblázat: Eltérő telepek morfológiai jellemzői (Forrás: saját munka)	30
7. táblázat: Az izolátumok mikromorfológia jellemzése	32
8. táblázat: MALDI-TOF MS vizsgálati eredmény adatai	35
9. táblázat: Antibiotikum-rezisztencia vizsgálat eredményei mm-ben a vizsgált baktériumokra	36

MATE Szervezeti és Működési Szabályzat

III. Hallgatói Követelményrendszer

III.1. Tanulmányi és Vizsgaszabályzat

6.13. sz. függeléke: A MATE egységes szakdolgozat / diplomadolgozat / záródolgozat / portfólió készítési útmutatója

4.2. sz. melléklete: Nyilatkozat a záródolgozat/szakdolgozat/diplomadolgozat/portfólió nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről (módosítva: 2025. október 16.)

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat¹ nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Kocsis Virág
A Hallgató Neptun kódja: ZWKMMP
A dolgozat címe: Tejtermékekből izolált baktériumok antibiotikum rezisztenciájának feltérképezése
A megjelenés éve: 2025
A konzulens intézetének neve: Budai Campus, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve: Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéncia és -biztonság Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott diplomadolgozat² 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 mindenkor szellemitulajdon-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 év 11. hó 03. nap



Hallgató aláírása

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Kocsis Virág
Neptun-kódja:	ZWKMMP
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input type="checkbox"/> BSc/BA <input checked="" type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	Diplomamunka 1./ELTUD042N
A munka címe:	Tejtermékekből izolált baktériumok antibiotikum rezisztenciájának feltérképezése

* 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)
fordítás, ötletelés	chatGPT 5	

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. október hó 28. nap



Hallgató aláírása



Témavezető aláírása

NYILATKOZAT

Kocsis Virág (hallgató Neptun azonosítója: ZWKMMP)
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a
záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ 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 javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: Budapest, 2025 év október hó 28 nap



Dr. Kiskó Gabriella, konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törölendő.

² A megfelelő aláhúzendó.

³ A megfelelő aláhúzendó.


NYILATKOZAT

Kocsis Virág (hallgató Neptun azonosítója: ZWKMMP)
konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a
záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót¹ 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 javaslom².

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*3}

Kelt: Budapest, 2025 év október hó 28 nap



Dr. Belák Ágnes, konzulens

¹ A megfelelő dolgozattípus meghagyása mellett a többi típus törlendő.

² A megfelelő aláhúzendó.

³ A megfelelő aláhúzendó.