

SZENT ISTVÁN EGYETEM



DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

***A *Pseudomonas aeruginosa* környezetbiztonsági jelentősége
antropogén hatás alatt álló közegekben***

Kaszab Edit

Gödöllő

2010

17

A doktori iskola

megnevezése: **Környezettudományi Doktori Iskola**

tudományága: **Környezettudomány**

vezetője: **Dr. Heltai György D.Sc.**
tanszékvezető, egyetemi tanár
Szent István Egyetem,
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Környezettudományi Intézet
Kémia és Biokémia Tanszék

Témavezető: **Dr. Szoboszlai Sándor Ph.D.**
tanszékvezető-helyettes, egyetemi docens
Szent István Egyetem,
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Környezet- és Tájgazdálkodási Intézet
Környezetvédelmi és Környezetbiztonsági Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1. A TÉMA AKTUALITÁSA, JELENTŐSÉGE	4
2. CÉLKITŰZÉSEK, ELŐZMÉNYEK	5
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	7
3.1. Mintavétel	7
3.2. A <i>P. aeruginosa</i> faj izolálása és identifikálása	7
3.3. Virulencia vizsgálatok	8
3.4. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok	8
4. EREDMÉNYEK	9
4.1. A <i>P. aeruginosa</i> kimutatási gyakorisága szénhidrogénnel szennyezett kárhelyeken és komposztban	9
4.2. Törzsgyűjtemény létrehozása	10
4.3. Virulencia vizsgálatok eredményei	11
4.4. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok eredményei	14
5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK	18
6. A TÉMÁBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA	23

1. A TÉMA AKTUALITÁSA, JELENTŐSÉGE

Napjainkban az élet szinte minden területén lendületet nyert a mikroorganizmusok biotechnológiai (ipari, mezőgazdasági, egészségügyi, környezetvédelmi) célokra történő felhasználása. Az alkalmazható szervezetek körének bővülésével azonban egyre inkább megfogalmazódik az az igény, hogy a tudatos emberi beavatkozásokban felhasználandó mikroorganizmusok ne vessenek fel humán-egészségügyi, vagy környezetbiztonsági aggályokat. Ennek ellenére a nemzetközi gyakorlatban még mindig találunk példát faj szinten identifikálatlan, a kémiai, illetve a biológiai biztonságot veszélyeztető mikroszervezetek biotechnológiai célú felhasználására.

A tudatos emberi beavatkozással, bioaugmentációs eljárások keretében alkalmazott mikroorganizmusok mellett gondot jelentenek a szennyezett területen spontán módon megjelenő, gyakran humán-, állat-, illetve növény-patogén mikroszervezetek is, melyek adott szennyezőanyaghoz adaptálódva akár a fertőzési, megbetegítési kockázat szintjét elérő sejtszámban is kimutathatóak. A mikroorganizmusok jelentősége a szennyvíziszapok, állattartásból származó trágya, hígtrágya, számos növényi maradvány, ill. napjainkban a biogázüzemi és hőerőművi melléktermékek biotranszformációjában is kiemelkedő lehet, mely folyamat esetében a komposztálás tekinthető kulcsfolyamatnak. A komposztálás eredményességét, ill. környezetbiztonságát pedig - a bioremediációs módszerekhez hasonlóan - az alkalmazandó mikroorganizmusok tulajdonságai határozzák meg.

A biotechnológiai eljárások során felhasználásra kerülő mikroszervezetek lehetséges biológiai veszélyeiről jelenleg elsősorban az adott nemzetség, illetve faj közvetlen humán-egészségügyi megítélése alapján tájékozódunk. Számos mikrobiális faktor hordoz ugyanakkor jelentőséget a kolonizáció, illetve az infekció létrejöttében és kezelhetőségében. E szempontok (antibiotikum rezisztencia, ill. virulencia) vizsgálatára a klinikum széles eszköztárral bír, melyek végrehajtására a környezeti baktériumtörzsek esetében azonban alig találunk példát.

A *Pseudomonas aeruginosa* baktériumfaj a kettős megítélés tipikus példája: klinikai viszonylatban az egyik legjelentősebb fakultatív patogén kórokozó, mely a súlyos kimenetellel járó nozokomiális infekciók jelentős hányadáért felelős. Környezeti vonatkozásait tekintve azonban humán-egészségügyi kockázatát jellemző módon alábecsülik, és számos esetben igyekeznek törzseit a környezetvédelmi beavatkozások szolgálatába állítani.

2. CÉLKITŰZÉSEK, ELŐZMÉNYEK

Doktori kutatási témában négy célkitűzést fogalmaztunk meg:

- A *P. aeruginosa* kimutatási gyakoriságának, jellemző sejtszámának megállapítása környezeti, de közvetlen antropogén hatásnak kitett közegekben, mint:
 - szénhidrogénnel szennyezett kárhelyek,
 - hőerőművi és biogázüzemi melléktermékek és az ezekből készített komposztok.
- Virulencia vizsgálatok végrehajtása molekuláris genetikai és hagyományos mikrobiológiai módszerekkel a környezeti mintákból származó baktériumtörzsek megbetegítő képességére utaló tulajdonságok laboratóriumi igazolására.
- Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok végrehajtása a környezeti eredetű izolátumok rezisztencia profiljának megállapítására.
- A környezeti izolátumok antibiotikum rezisztenciájára és virulenciájára irányuló vizsgálatok eredményeinek összevetése a klinikai törzsek esetében fellelhető adatokkal.

Az első célkitűzésem megvalósítása érdekében, azaz a *P. aeruginosa* faj kimutatási gyakoriságának megállapításához szükséges volt olyan magyarországi kárhelyek kiválasztására, melyek az aktív környezetvédelem keretében a kármentesítés valamelyik szakaszában lévő, elsősorban szénhidrogénnel szennyezett területek.

A komposzt minták vizsgálata során célszerű volt a komposztálás folyamatának követhetőségéhez igazítani a vizsgálandó minták körét. Ennek keretében olyan komposztálási kísérleteket választottunk, melyek esetében a komposztálás nyersanyagai hőerőművi, vagy biogázüzemi melléktermékek, a nyersanyagok számunkra hozzáférhetőek, *P. aeruginosa* szám meghatározásra vizsgálhatóak, illetve a komposztálás teljes folyamata, technológiája végigkövethető.

A további célkitűzéseink megvalósítása érdekében a vizsgálatba vont minták feldolgozásával feladatunk volt olyan törzsgyűjtemény kialakítása, mely fenotípusos, tenyésztéses (esetünkben a vonatkozó Magyar Szabvány alapján végzett) identifikáció mellett molekuláris biológiai módszerrel (16S rDNS alapú PA-SS PCR) is azonosított, ismert faji hovatartozású *P. aeruginosa* törzsekből áll.

A második célkitűzésben meghatározott patogenitási vizsgálatok végrehajtását indokolta, hogy a környezetvédelmi gyakorlat számos esetben elhanyagolható biológiai veszélyt tulajdonít a környezeti eredetű *P. aeruginosa* törzseknek és ennek megfelelően kezeli azokat. Ezért munkánk során célul tűztük ki a virulenciát meghatározó fenotípusos és genotípusos tulajdonságok környezeti törzsek között tapasztalható gyakoriságának vizsgálatát. Ennek

megvalósításához egyrészt a hemolitikus aktivitás megállapítását célzó tenyésztési vizsgálatokat, másrészt a patogenezisben kiemelten fontos, az infekció súlyosságát és lefolyását döntő mértékben meghatározó virulencia gének kimutatását választottuk munkamódszerül. A virulenciáért felelős legfontosabb exotoxinok és exoenzimek (ExoA, ExoU, ExoT, ExoY, ExoS) termeléséért felelős génszakaszok környezeti gyakoriságát klinikai vizsgálatok eredményeivel kívántuk összehasonlítani.

A harmadik célkitűzésünkben megfogalmazott antibiotikum rezisztencia vizsgálatok végrehajtását az indokolta, hogy nem klinikai eredetű *P. aeruginosa* izolátumok esetében csupán elenyésző adat állt rendelkezésre e témakörben. E hiány pótlása érdekében nemzetközileg elfogadott, szabványosított módszerek alapján antibiotikum rezisztencia vizsgálatok végrehajtását terveztük, melynek végrehajtását két fő szakaszra osztottuk:

- Előzetes rezisztencia vizsgálatok: 31 antibiotikum hatóanyagot felölelő, átfogó vizsgálatsorozat végrehajtása szemikvantitív korongdiffúziós teszttel.
- Kvantitatív vizsgálatok: számszerű, Minimális Gátló Koncentráció (MIC) értékek megállapítása a korongdiffúziós tesztek alapján kiválasztott 10 legfontosabb, a klinikai gyakorlat számára is jelentős hatóanyagra vonatkozóan.

A negyedik célkitűzésünk eredményeképp olyan kvantitatív eredményekre számítottunk a klinikum által hatékonyak tekintett antibiotikumok esetében mutatkozó környezeti rezisztenciáról, mely értékek így a klinikai környezetben tapasztalt antibiotikum-rezisztenciával összehasonlíthatóvá válhatnak.

A kitűzött célok megvalósulása esetén azt feltételeztük, hogy minden korábbinál részletesebb és átfogóbb képet nyerhetünk a *P. aeruginosa* baktériumfaj humán-egészségügyi kockázatairól antropogén hatás alatt álló közegekben.

A doktori értekezésben bemutatott eredmények és tézisek saját laboratóriumi vizsgálatokon és méréseken alapulnak, az eredmények összevetéséhez pedig az összegyűjtött és értékelt, hivatkozott klinikai szakirodalom szolgált alapul.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

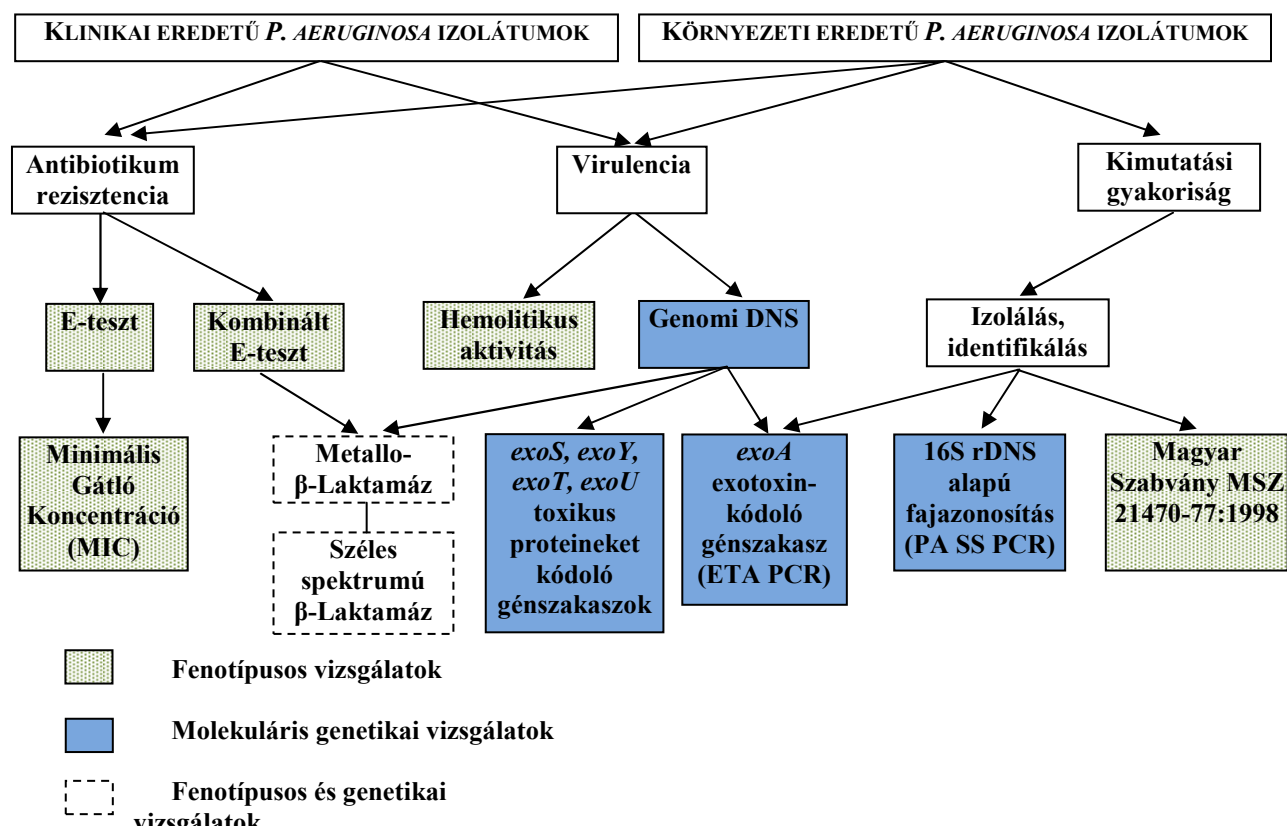
3.1. Mintavétel

A mintavételi helyszínek szénhidrogénnel szennyezett kárhelyek, illetve félüzemi, kísérleti komposztáló telepek voltak. A 2002-2009. közötti időintervallumban 49 szénhidrogénnel szennyezett kárhely összesen 235 környezeti mintája (amelyek földtani közegből, felszín alatti vízből, ill. biofilterből származtak), valamint összesen 101, komposzthoz köthető minta (komposztálási alapanyagának számító hőerőművi és biogázüzemi melléktermékek, érés alatt álló, ill. érett komposzt, továbbá komposzttal kezelt talaj) került feldolgozásra.

A szilárd és folyadék fázisú minták vételezéséhez a vonatkozó Magyar Szabványokat vettük figyelembe (MSZ 21470-1: 1998, MSZ 21464: 1998).

3.2. A *P. aeruginosa* faj izolálása és identifikálása

A *P. aeruginosa* faj kimutatását, valamint jellemző élősejtszámának megállapítását a vonatkozó Magyar Szabvány előírásai szerint hajtottuk végre (MSZ 21470-77: 1988). A bakteriális sejtszám meghatározására MPN (Most Probable Number) módszert alkalmaztunk. A vizsgálat során nyert tiszta tenyészetek, illetve az értékeléshez használt klinikai törzstenyészetek esetében a részletes vizsgálatok során többlépcsős protokollt



alkalmaztunk (ld. 1. sz. ábra).

1. sz. ábra: A *P. aeruginosa* esetében végrehajtott identifikációs, rezisztencia és virulencia vizsgálatok

A szabványosított eljárás keretében izolált környezeti törzsek tiszta tenyészetének faj szintű azonosítását teljes DNS izolálását követően PA-SS PCR reakció segítségével is elvégeztük. Ennek során a 16S rDNS V2 és V8 fajspecifikus alegységeinek kimutatását hajtottuk végre PA-SS-F (5'-GGGGGATCTTCGGACCTCA-3') és PA-SS-R (5'-TCCTTAGAGTGCCACCCG-3') primerek felhasználásával.

3.3. Virulencia vizsgálatok

Hemolitikus aktivitás megállapítása: a tiszta törzstenyészetek Columbia véragar táptalajon történő tenyésztéses vizsgálata alapján (inkubáció: 37 °C, 22 h). A hemolízis-intenzitás jellemzése ötfokozatú skálán történt.

Exotoxinok (ExoA és ExoU), ill. exoenzimek (ExoS, ExoT és ExoY) termeléséért felelős génszakaszok azonosítása: teljes DNS izolálását követően az *exoA*, *exoU*, *exoS*, *exoT* és *exoY* génszakaszok azonosítása PCR reakcióban az 1. sz. táblázatban ismertetett primer-párok felhasználásával.

1. sz. táblázat: A *P. aeruginosa* törzsek virulencia faktorainak vizsgálatára irányuló PCR reakcióiban használt primerek szekvenciái

Gén	Primer szekvenciák (5'-3')					
<i>exoA</i>	F: 5'	AAC CAG CTC AGC CAC ATG TC	3'	R: 5'	CGC TGG CCC ATT CGC TCC AGC GCT	3'
<i>exoS</i>	F: 5'	GCG AGG TCA GCA GAG TAT CG	3'	R: 5'	TTC GGC GTC ACT GTG GAT GC	3'
<i>exoT</i>	F: 5'	AAT CGC CGT CCA ACT GCA TGC G	3'	R: 5'	TGT TCG CCG AGG TAC TGC TC	3'
<i>exoY</i>	F: 5'	CGG ATT CTA TGG CAG GGA GG	3'	R: 5'	GCC CTT GAT GCA CTC GAC CA	3'
<i>exoU</i>	F: 5'	CCG TTG TGG TGC CGT TGA AG	3'	R: 5'	CCA GAT GTT CAC CGA CTC GC	3'

3.4. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok

Korongdiffúziós teszt: a klinikai antibiotikum-rezisztencia vizsgálatokban rutinszerűen alkalmazott 9 hatóanyagcsoport 31 készítményére vonatkozó átfogó vizsgálatosorozat.

Minimális gátló koncentrációk meghatározása: a *P. aeruginosa* terápiájában első választásba eső 5 hatóanyagcsoport (Penicillinek, Carbapenemek, Cefalosporinok, Aminoglikozidok, Kinolonok) 10 készítményének kvantitatív Etest (AbBiodisk, Solna, Svédország) módszerrel történő vizsgálata.

ESBL (széles spektrumú béta-laktamáz), és MBL (metallo béta-laktamáz) termelés vizsgálata: kombinált E-teszt csíkok (AbBiodisk, Solna, Svédország) felhasználásával.

Kivitelezés és értékelés: a Clinical Laboratory Standards Institute ajánlásai és a gyártó (AbBiodisk) útmutatása szerint. Referencia törzs: ATCC 27853.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A *P. aeruginosa* kimutatási gyakorisága szénhidrogénnel szennyezett kárhelyeken és komposztban

A *P. aeruginosa* kimutatási gyakoriságára és jellemző élősejt számára vonatkozó eredményeket a 2. sz. táblázat foglalja össze.

2. sz. táblázat: A *P. aeruginosa* faj kimutatási gyakorisága szénhidrogénnel szennyezett területeken, ill. komposztálás során

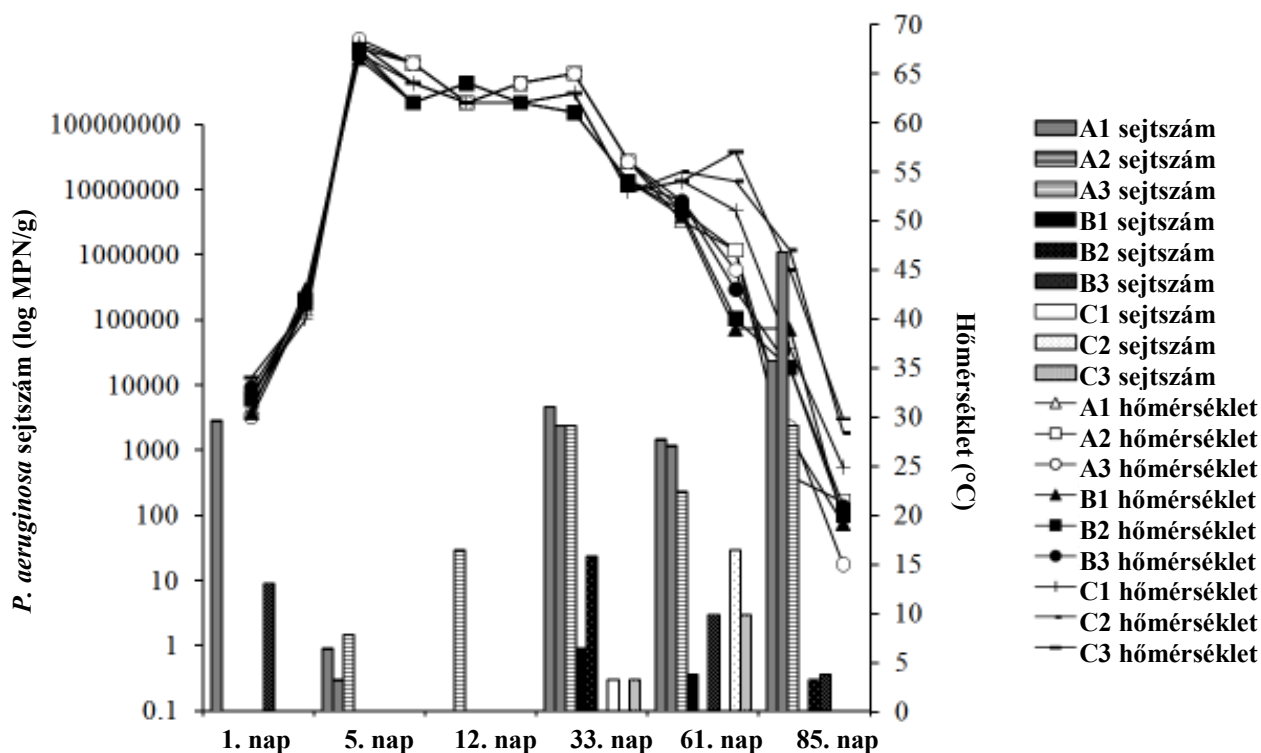
Származás	Mintavételi helyszínek száma (db)	<i>P. aeruginosa</i> helyszíni esetszáma (db)	Kimutatási gyakoriság (%)	Vizsgált minták száma (db)	<i>P. aeruginosa</i> -t tartalmazó minták száma (db)	Kimutatási gyakoriság (%)	Jellemző élősejt szám (MPN/g, ml)
CH szennyezett közeg	49	34	69,3%	235	80	34,0%	10^1 - 10^4
Komposzt alapanyag	8	1	12,5%	17	1	5,8%	10^3
Komposzt	2	2		78	36	46,1%	
Nyitott prizmás	1	1		54	29	53,7%	10^1 - 10^6
Zárt prizmás	1	1		24	7	29,1%	10^1 - 10^4
Komposztal kezel talaj	1	1		6	5	83,3%	

A *P. aeruginosa* kimutathatóságára irányuló vizsgálataink alapján a szakirodalomban fellelhető, feltevés, miszerint a *P. aeruginosa* szénhidrogénnel szennyezett talajokban és talajvizekben gyakran detektálható baktériumfaj igazolást nyert, a reprezentatív mintaszám alapján számszerű értékkel párosult.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.1. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(1. tézis) 49, szénhidrogénnel szennyezett kárhely 235 mintájának vizsgálata alapján megállapítottuk, hogy a szabványos izolálási és identifikálási módszerekkel a *P. aeruginosa* a vizsgált kárhelyek 69,3%-án volt legalább egy esetben detektálható, míg a vizsgált összes minta esetében 34,0%-os kimutatási gyakoriság volt jellemző. Az eredmény kisebb elemszámra vonatkoztatott megállapításait nemzetközi publikációban adtuk közre (KASZAB ET AL., 2010a).

A komposztálás folyamatára vonatkozó vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a választott komposztálási módszer jelentősen befolyásolja a *P. aeruginosa* felszaporodását: a zárt technológia hatékonyabban eliminálja a faj képviselőit, mint a nyitott prizmás komposztálás (ld. 2. sz. táblázat). A jellemzően mezofil *P. aeruginosa* faj ugyanakkor mindkét technológia alkalmazása mellett képes volt a komposztálás termofil szakaszának túlélésére (ld. 2. sz. ábra).



2. sz. ábra: A *P. aeruginosa* sejtszám (log MPN), illetve a tapasztalt hőmérséklet (°C) változása nyitott prizmás komposztálási kísérlet során, 3 párhuzamos prizma (A1-A3., B1-B3., C1-C3) esetében

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.1. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(2. tézis) Eddig nem vizsgált komposzt-alapanyagok (ipari, biogázüzemi) nyitott prizmás, félüzemi komposztálási kísérlete alapján megállapítottuk, hogy a *P. aeruginosa* baktériumfaj a jogszabályi előírásoknak megfelelő technológia és hőmérséklet mellett is képes lehet a komposztálás termofil szakaszának túlélésére és magas sejtszámban megjelenthet a kész komposztban. Eredményünket nemzetközi tudományos folyóiratban publikáltuk (KASZAB ET AL., 2010b).

4.2. Törzsgyűjtemény létrehozása

A 2002-2009. közötti vizsgálati időszakban végzett izolálási eljárás keretében 36, szénhidrogénnel szennyezett területekről, valamint 25, komposztáláshoz, ill. komposzt felhasználáshoz kötődő mintából izolált, a vonatkozó Magyar Szabvány, valamint molekuláris genetikai vizsgálatok alapján egyaránt faj szinten identifikált *P. aeruginosa* törzs került törzsgyűjteményünkbe további, fenotípusos és molekuláris genetikai vizsgálatok céljából.

4.3. Virulencia vizsgálatok eredményei

A *P. aeruginosa* faj környezeti törzseinek megbetegítő képességére utaló tulajdonságok laboratóriumi igazolására közvetlen, ill. közvetett virulencia faktorok vizsgálatát hajtottuk végre molekuláris genetikai és hagyományos mikrobiológiai módszerekkel. A szénhidrogénnel szennyezett területekről származó izolátumok eredményeit a 3. sz. táblázat, míg a komposzt eredetű törzsek esetében tapasztalt értékeket a 4. sz. táblázat foglalja össze.

3. sz. táblázat: A *P. aeruginosa* szénhidrogénnel szennyezett területről származó izolátumainak hemolitikus aktivitása, valamint exotoxin és exoenzim kódoló génszakaszok

Törzs jele	Származás	Hemolitikus aktivitás	Exoenzim kódoló génszakaszok				
			<i>exoS</i>	<i>exoY</i>	<i>exoT</i>	<i>exoU</i>	<i>exoA</i>
PCR vizsgálatok eredménye							
ATCC 27853	Klin.	+	+	+	+	-	+
KPS-1	Klin.	+	-	+	+	+	-
KPS-2	Klin.	++	+	-	+	-	-
KPS-3	Klin.	+	-	+	+	+	+
KPS-4	Klin.	++	-	+	+	+	+
P2	Diósd	-	+	+	+	-	+
P9	Diósd	-	-	+	+	+	+
P10	Diósd	-	-	+	+	+	+
P11	Diósd	-	+	+	+	-	+
P14	Tököl	+/-	+	+	+	-	+
P15	Tököl	++	+	+	+	-	+
P16	Tököl	+/-	+	+	+	-	+
P17	Tököl	+	+	+	+	-	+
P18	Tököl	+/-	+	+	+	-	+
P22	Túrkeve	+	+	+	+	-	+
P28	Püspökladány	+	+	+	+	-	+
P30	Szabadszállás	-	+	+	+	-	+
P31	Komádi	+++	+	+	+	-	+
P32	Komádi	++	+	+	+	-	+
P33	Tököl	+++	+	+	+	-	+
P35	Szabadszállás	++	+	+	+	-	+
P36	Szabadszállás	+++	+	+	+	-	+
P37	Szabadszállás	+	+	+	+	-	+
P38	Ópusztaszer	+	+	+	+	-	+
P39	Algyó	+++	+	+	+	-	+
P42	Mezőtúr	+	+	+	+	-	+
P43	Ópusztaszer	+++	-	+	+	+	+
P45	Budapest I	-	+	+	+	-	+
P46	Budapest I	+	+	+	+	-	+
P49	Bátonyterenye	+++	+	+	+	-	+
P50	Bátonyterenye	+++	+	+	+	-	+
P53	Zalaegerszeg I	+	+	+	+	-	+
P62	Szarvas II	-	+	+	+	-	+
P65	Zalaegerszeg II	+	+	+	+	-	+
P66	Zalaegerszeg II	++	+	+	+	-	+
P69	Nagyszénás	++	+	+	+	-	+
P70	Nagyszénás	+++	-	+	+	+	+
P71	Debrecen	+	-	+	+	+	+
P77	Zalaegerszeg II	+	+	+	+	-	+
P78	Szarvas II	++	+	+	+	-	+
P79	Szarvas II	++	+	+	+	-	+

Klin – klinikai származású törzsek

Hemolitikus aktivitás vizsgálatok: - nincs hemolízis; +/- kétséges hemolízis; + gyenge hemolízis; ++ hemolízis; +++ intenzív hemolízis; PCR vizsgálatok: + pozitív PCR reakció; - negatív PCR reakció

4. sz. táblázat: A *P. aeruginosa* komposzt eredetű izolátumainak hemolitikus aktivitása, valamint exotoxin és exoenzim kódoló génszakaszok

Törzs jele	Származás	Hemolitikus aktivitás	Exoenzim kódoló génszakaszok				
			<i>exoS</i>	<i>exoY</i>	<i>exoT</i>	<i>exoU</i>	<i>exoA</i>
PCR vizsgálatok eredménye							
ATCC 27853	Klin.	+	+	+	+	-	+
KPS-1	Klin.	+	-	+	+	+	-
KPS-2	Klin.	++	+	-	+	+	-
KPS-3	Klin.	+	-	+	+	+	+
KPS-4	Klin.	++	-	+	+	+	+
K1	Órbottyán	+	+	+	+	-	+
K2	Órbottyán	+++	+	+	+	-	+
K3	Órbottyán	++	-	-	-	-	+
K4	Órbottyán	++	-	+	+	-	+
K5	Órbottyán	+	+	+	+	-	+
K13	Kecskemét	+++	-	-	-	-	+
K15	Kecskemét	+++	+	+	+	-	+
K16	Kecskemét	-	+	+	+	-	+
K19	Kecskemét	++	+	+	+	-	+
K20	Kecskemét	-	+	+	+	-	+
K21	Kecskemét	++	+	+	+	-	+
K22	Kecskemét	+++	+	+	+	-	+
K23	Kecskemét	+++	+	+	+	-	+
K24	Kecskemét	+++	+	+	+	-	+
K25	Kecskemét	++	-	-	+	-	+
K26	Kecskemét	+++	+	+	+	-	+
K29	Kecskemét	+++	-	-	+	-	+
K30	Kecskemét	++	+	+	+	-	+
K31	Kecskemét	++	+	+	+	-	+
K32	Kecskemét	+	+	+	+	-	+
K35	Kecskemét	++	+	+	+	-	+
K37	Kecskemét	+++	-	-	+	-	+
K38	Balatonfüzfő	+	+	+	+	-	+
K39	Balatonfüzfő	+++	+	+	+	-	+
K40	Balatonfüzfő	++	+	+	+	-	+

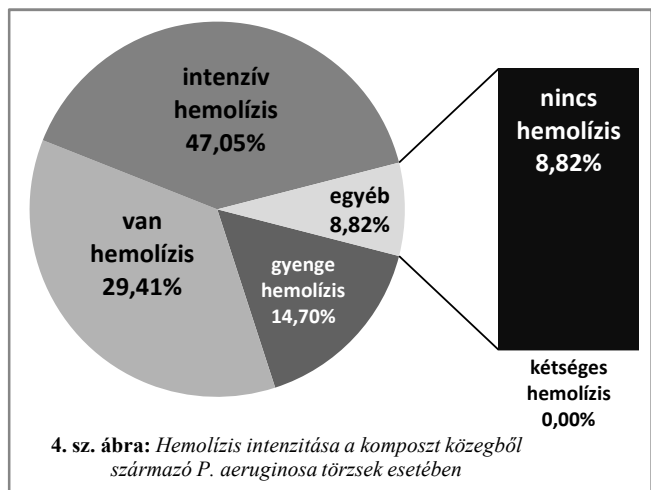
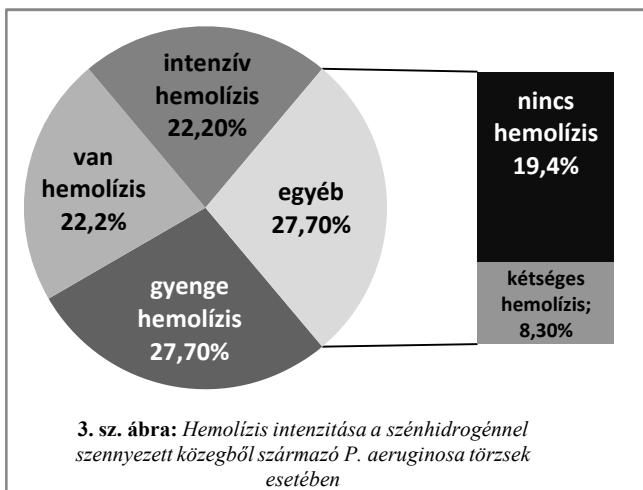
Klin. – klinikai származású törzsek

Hemolitikus aktivitás vizsgálatok: - nincs hemolízis; +/- kétséges hemolízis; + gyenge hemolízis; ++ hemolízis;

+++ intenzív hemolízis; PCR vizsgálatok: + pozitív PCR reakció; - negatív PCR reakció

Hemolitikus aktivitás vizsgálatok eredményei

Munkánk során megállapítást nyert, hogy a környezeti eredetű *P. aeruginosa* törzsek 80,3%-ban mutattak valamilyen mértékű hemolitikus aktivitást, azaz a vizsgált törzsek közel 4/5-e képes a vörösvértetek károsítására, mely közvetlen virulenciára utaló faktornak tekinthető. A hemolitikus aktivitás intenzitásában mutatkozó eltéréseket a 3., ill. 4. sz. ábra



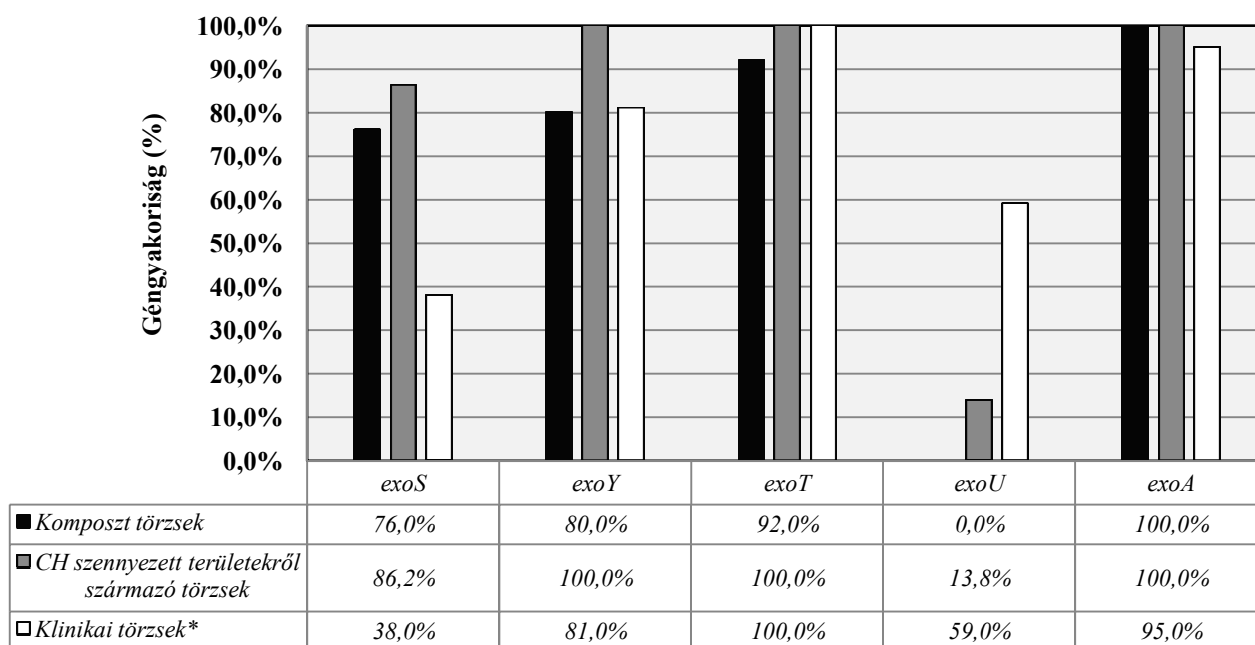
foglalja össze.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.3. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(3. tézis) A hemolitikus aktivitás vizsgálatok alapján a szénhidrogénnel szennyezett kárhelyekről származó 36 izolátum 72,1%-a, míg a 25 komposzt eredetű törzs 91,1%-a mutatott béta hemolízist. Eredményeink szénhidrogénnel szennyezett területekről származó törzsekre vonatkoztatott adatait hazai tudományos folyóiratban közzeltük (KASZAB ET AL., 2010c).

Exotoxinok és exoenzimek termelését kódoló génszakaszok kimutatásának eredményei

A közvetett virulencia determinánsok közül a II. és III. típusú szekréciós rendszer által kiválasztott toxinokat, ill. toxikus proteineket kódoló génszakaszok (*exoA*, *exoU*, *exoS*, *exoT*, *exoY*) detektálása során megállapítottuk, hogy a környezeti eredetű *P. aeruginosa* törzsek genetikai állományában az esetek döntő részében egyidejűleg legalább két vizsgált génszekvencia volt jelen. A vizsgálatba vont génszakaszok a szénhidrogénnel szennyezett területekről izolált törzsek genetikai állományában az alábbi arányban voltak detektálhatóak: *exoA*: 100,0%; *exoS*: 86,2%; *exoY*: 100,0%; *exoT*: 100,0%; *exoU*: 13,8%. A komposztal kezelt területekről izolált törzsek genomjában az alábbi kimutatási arányokat tapasztaltuk: *exoA*: 100,0%; *exoS*: 76,0%; *exoY*: 80,0%; *exoT*: 92,0%; *exoU*: 0,0% (ld. 5. sz. ábra).



5. sz. ábra: Exotoxinok és exoenzimek termeléséért felelős génszakaszok gyakorisága környezeti és klinikai viszonylatban
*szakirodalmi adatok alapján

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.3. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(4. tézis) A környezeti eredetű *P. aeruginosa* izolátumok döntő hányada (96,7%-a) legalább két különböző virulencia faktor egyidejű hordozásával toxikus proteinek termelésére lehet képes. Eredményeink komposzt-eredetű törzsekre vonatkozó adatait nemzetközi publikációban adtuk közre (KASZAB ET AL., 2010b).

A virulencia és antibiotikum rezisztencia tulajdonságok eredményeinek összevetése a klinikai viszonylatban tapasztalt adatokkal

Szakirodalmi források alapján megállapítható, hogy az *exoS* és *exoT* gének jellemzően az invazív típusú *P. aeruginosa* törzsekben lelhetőek fel, míg a citotoxikus hatással bíró izolátumok elveszítik *exoS* génszakaszukat, ugyanakkor megőrzik az *exoT*-t. A nem-invazív tulajdonsággal jellemezhető törzsek citotoxicitása elsősorban az *exoU* génszakasz jelenlétének és aktivitásának tulajdonítható. Az általunk vizsgált környezeti eredetű izolátumok zöme tehát – genetikai sajátosságaik és a szakirodalmi forrásokkal való összevetés alapján – az invazív törzsek csoportjába sorolható.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.3. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(5. tézis) Az *exoA*, *exoY* és *exoT* előfordulási gyakoriságában klinikai és környezeti viszonylatban nincs érdemi különbség. Az *exoU* génszakasz környezeti törzsek esetében alulreprezentált, helyette az *exoS* dominanciája jellemző. A komposzt eredetű törzsek 100,0%-ban az invazív törzsek csoportjába sorolhatóak, míg a szénhidrogénnel szennyezett területekről izolált törzsek 13,8%-ban citotoxikus, 86,2%-ban invazív jelleget mutatnak. Eredményeink komposzt-eredetű törzsekre vonatkozó adatait nemzetközi publikációban adtuk közre (KASZAB ET AL., 2010b).

4.4. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok eredményei

Az antibiotikum rezisztencia vizsgálatok részletes eredményeit az 5. ill. 6. táblázatok tartalmazzák. Az alkalmazott 10 féle, a *P. aeruginosa* terápiájában első választásba eső antibiotikum készítmény rendkívül eltérő hatékonyságot mutatott. A hatásukat veszített hatóanyagcsoportok jellemzően a harmadik generációs Cefalosporinok, a Carbapenemek, a széles spektrumú Penicillinek, ill. kisebb esetszámmal az Aminoglikozidok voltak. A Béta-laktám antibiotikumok hatástalanságáért felelőssé tehető ESBL és MBL termelés két-két környezeti izolátum esetében nyert fenotípusos igazolást.

5. sz. táblázat: Minimális Gátló Koncentráció értékek a *P. aeruginosa* szénhidrogénnel szennyezett területekről származó törzseire vonatkozóan

Hatóanyag-csoport			harmadik generációs Cefalosporinok				negyedik generációs Cefalosporinok	széles spektrumú Penicillinek	Carbapenemek	Fluoroquinolonok		Aminoglikozidok
Antibiotikum			cefoperazon / sulbactam	cefotaxim	ceftazidim	ceftriaxon	cefepim	pipercacillin	imipenem	ciprofloxacim	ofloxacin	gentamicin
Tartomány (µg/ml)			0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.002-32	0.002-32	0.002-32	0.016-256
Törzsgyűjteményi jel	Eredet	Kárhely sorszáma	Minimális Gátló Koncentráció (MIC) értékek									
ATCC 27853	Klin.	-	6	24	1.5	>256	3	4	6	0.75	6	1.5
KPS-1	Klin.	-	12	16	0.38	24	1.5	6	>32	0.19	1.5	1.5
KPS-2	Klin.	-	4	>256	12	>256	2	16	4	0.125	1.5	1.5
KPS-3	Klin.	-	2	8	4	24	1	3	1	0.94	1	4
KPS-4	Klin.	-	12	>256	24	>256	8	>256	1.5	0.94	0.5	>256
P2	Diósd	14	1.5	8	1	6	0.75	6	4	0.032	0.5	1.5
P9	Diósd	14	2	8	0.75	6	2	4	>32	0.047	0.38	2
P10	Diósd	14	1.5	8	1	3	1.5	2	1	0.032	0.16	2
P11	Diósd	14	3	>256	32	>256	1.5	64	3	0.047	0.5	3
P14	Tököl	45	8	>256	>256	>256	4	4	0.38	0.125	2	8
P15	Tököl	45	1.5	12	1	32	2	3	1.5	0.094	0.5	3
P16	Tököl	45	3	>256	1.5	48	2	4	>32	0.125	1	2
P17	Tököl	45	2	>256	1.5	24	2	4	3	0.125	0.75	3
P18	Tököl	45	2	3	0.75	4	0.75	1.5	0.25	0.047	0.25	1
P22	Túrkeve	46	2	12	1	48	4	4	0.5	0.125	1.5	2
P28	Püspökladány	33	6	12	1	>256	6	4	>32	0.38	2	2
P30	Szabadszállás	35	3	16	1.5	>256	4	6	>32	0.125	0.75	3
P31	Komádi	25	4	24	1	>256	3	16	2	0.094	2	2
P32	Komádi	25	8	>256	8	>256	3	48	>32	0.064	4	1.5
P33	Tököl	45	2	32	8	>256	4	6	3	0.16	2	3
P35	Szabadszállás	35	12	12	2	>256	4	8	6	0.094	0.75	3
P36	Szabadszállás	35	2	12	1.5	>256	3	4	>32	0.94	3	1.5
P37	Szabadszállás	35	3	16	3	>256	3	6	6	0.094	1	2
P38	Ópusztaszer	31	3	12	1.5	12	6	8	3	0.38	4	1.5
P39	Algyő	1	3	16	1	>256	6	16	>32	0.25	6	2
P42	Mezőtúr	29	1	12	1.5	8	0.5	8	1	0.032	2	1.5
P43	Ópusztaszer	31	16	>256	64	>256	24	>256	>32	0.125	2	>256
P45	Budapest I	5	6	>256	24	>256	4	16	>32	0.045	0.75	1
P46	Budapest I	5	6	>256	8	>256	3	>256	>32	0.064	3	2
P49	Bátonyterenye	3	3	>256	2	32	3	16	1	0.25	1.5	2
P50	Bátonyterenye	3	3	24	1.5	>256	2	8	3	0.16	2	3
P53	Zalaegerszeg I	47	2	>256	1	>256	4	6	>32	0.125	3	2
P62	Szarvas II	37	2	16	2	16	0.75	8	2	0.047	1	2
P65	Zalaegerszeg II	48	2	12	1.5	16	6	1.5	3	0.094	1	1.5
P66	Zalaegerszeg II	48	1.5	8	6	48	1.5	8	3	0.125	0.75	3
P69	Nagyszénás	30	24	>256	24	>256	4	>256	>32	0.19	>32	2
P70	Nagyszénás	30	2	>256	1.5	>256	3	8	1.5	0.094	3	2
P71	Debrecen	12	2	16	2	48	3	>256	3	0.064	1.5	2
P77	Zalaegerszeg II	48	4	12	1.5	16	3	4	3	0.094	0.75	1.5
P78	Szarvas II	37	2	16	1.5	12	2	4	2	0.047	0.75	3
P79	Szarvas II	37	4	12	2	16	1.5	4	2	0.125	1	1.5

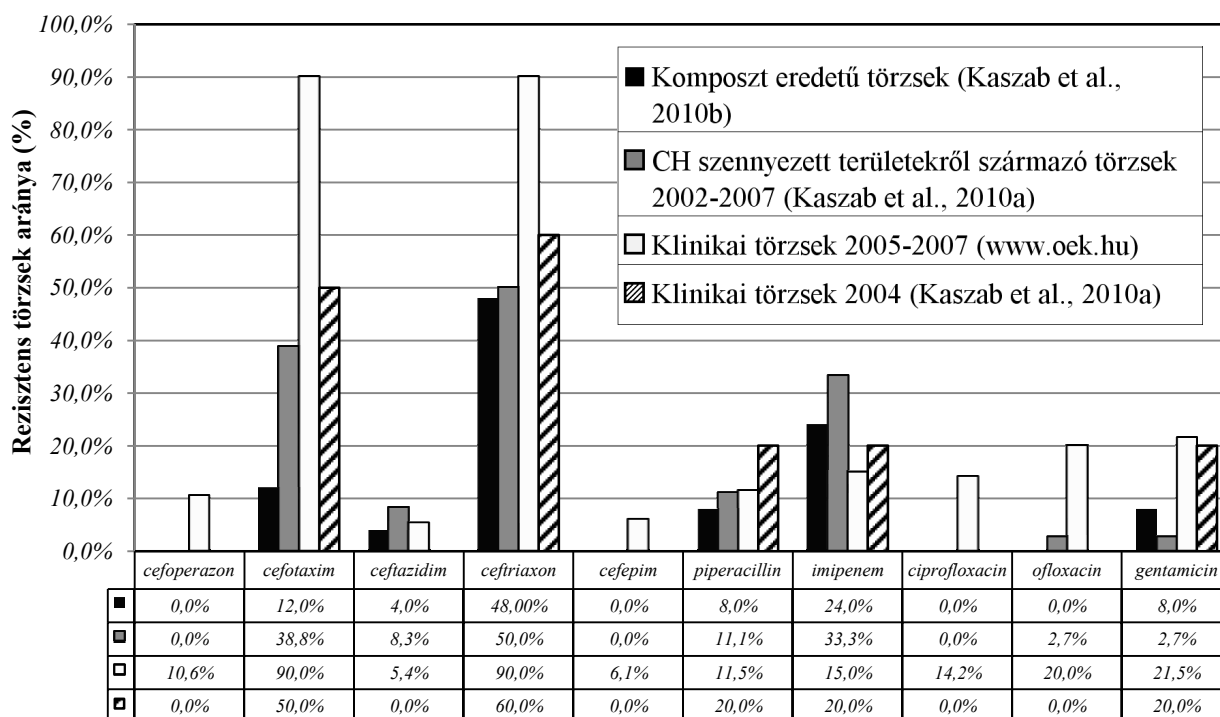
Klin. – klinikai származású izolátum; szürke mezők – rezisztencia (CLSI)

6. sz. táblázat: Minimális Gátló Koncentráció értékek a *P. aeruginosa* komposzt eredetű törzseire vonatkozóan

Hatóanyag-csoport			harmadik generációs Cefalosporinok				negyedik generációs Cefalosporinok	széles spektrumú Penicillinek	Carbapenemek	Fluoroquinolonok		Aminoglikozidok
Antibiotikum			cefoperazon/sulbactam	cefotaxime	ceftazidime	ceftriaxone	cefepime	piperacillin	imipenem	ciprofloxacín	ofloxacín	gentamicin
Tartomány (µg/ml)			0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	0.016-256	
Törzsgyűjteményi jel	Eredet	Terület sorszáma	Minimális Gátló Koncentráció (MIC) értékek									
ATCC 27853	KLIN	-	6	24	1.5	>256	3	4	6	0.75	6	1.5
K13	KA	8	3	48	2	128	6	12	2	1.0	1.5	16
K15	NYP	9	4	12	3	64	1.5	4	3	0.064	0.75	2
K16	NYP	9	3	16	1.5	256	1.5	4	1.5	0.125	0.5	2
K19	NYP	9	2	24	3	24	3	12	1.5	0.064	1.5	8
K20	NYP	9	3	32	1.0	256	1.5	3	1.0	1.5	1.0	4
K21	NYP	9	2	8	3	32	1.0	3	1.5	0.125	1.0	8
K22	NYP	9	3	16	2	24	3	4	3	1.19	0.75	4
K23	NYP	9	2	8	1.5	64	1.0	4	1.5	0.5	1.5	4
K24	NYP	9	1.5	12	1.0	256	1.5	4	2	0.125	1.0	95
K25	NYP	9	1.5	12	0.75	16	0.75	3	3	0.064	1.0	1.0
K26	NYP	9	6	24	2	24	2	4	4	0.094	0.75	3
K29	NYP	9	4	24	1.5	48	1.0	6	32	0.25	2	2
K30	NYP	9	3	24	1.0	48	1.0	6	1.5	0.125	1.0	4
K31	NYP	9	3	8	1.5	16	1.0	4	32	0.19	1.0	2
K32	NYP	9	2	48	1.5	32	1.5	4	32	0.125	2	0.75
K35	NYP	9	3	12	1.0	8	1.0	3	1.0	0.064	0.75	2
K37	NYP	9	2	256	1.0	256	1.5	4	1.5	0.064	0.5	3
K38	LZP	16	3	24	1.5	8	1.0	6	2	0.125	1.0	2
K39	LZP	17	4	256	64	256	12	256	2	0.125	0.75	4
K40	LZP	19	6	16	4	24	1.5	12	2	0.064	0.5	4
K1	KKT	20	8	16	1.5	256	3	6	4	0.19	1.5	1.5
K2	KKT	20	3	8	1.5	64	2	3	32	0.094	0.75	1.5
K3	KKT	20	0,5	8	1.5	48	1.5	6	32	0.047	1.0	1.5
K4	KKT	20	1.5	256	24	256	2	256	1.5	0.094	1.5	3
K5	KKT	20	4	16	1.0	192	1.5	32	32	0.064	0.5	0.19

Klin. – klinikai származású izolátum; KA – komposzt alanyag; NYP – nyitott prizma; LZP – levegőztetett zárt prizma; KKT – komposzttal kezelt talaj; szürke mezők – rezisztencia (CLSI)

Az antibiotikum rezisztencia vizsgálata során megállapítottuk, hogy a környezeti törzsek vonatkozásában e problémakör jelentősége nem marad el a klinikai területen tapasztaltaktól. Ahogyan azt az Országos Epidemiológiai Központ adataival történő összevetés is igazolja: a direkt szelektív nyomás (antibiotikum terápia) nélkül kialakuló környezeti rezisztencia ténye munkánk során megerősítést nyert (ld. 6. sz. ábra).



6. sz. ábra: Rezisztens *P. aeruginosa* törzsek aránya klinikai (2004; 2005-2007) és környezeti (2002-2007) viszonyok között (Kaszab et al., 2010a, Kaszab et al., 2010b)

A többszörös antibiotikum rezisztencia tekintetében elmondható, hogy legalább két különböző antibiotikum hatóanyagcsoporttal szembeni rezisztenciát detektáltunk összesen 17, környezeti eredetű *P. aeruginosa* izolátum esetében. Igazolást nyert tehát a multirezisztencia ténye a földtani közeg, a felszín alatti víz, valamint a komposzt mikrobaközösségeiben.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNY (a 4.4. fejezetben bemutatott eredmények alapján):

(6. tézis) Igazolást nyert az orvosi gyakorlatban első választásban alkalmazott hatóanyagokkal szembeni multirezisztencia 11, szénhidrogénnel szennyezett közegből származó, valamint 6, komposzt eredetű *P. aeruginosa* izolátum esetében. Eredményeink alapján első ízben kerültek izolálásra az Aminoglikozidok (P43), illetve a Fluorokinolonok (P69) csoportjába tartozó antibiotikum-hatóanyaggal szemben rezisztens, kórházi környezeten kívül izolált *P. aeruginosa* törzsek. Eredményeinket tudományos folyóiratokban publikáltunk (KASZAB ET AL., 2010a, KASZAB ET AL., 2010b).

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Vizsgálati eredményeink alapján megállapítható, hogy a *P. aeruginosa* baktériumfaj jellemző tagja az általunk vizsgált, antropogén hatás alatt álló közegeknek, így a szénhidrogénnel szennyezett, speciális életterek mikrobiotájának, a komposztálás folyamatában pedig képes lehet a mezofil patogének eliminálását szolgáló hőfázist túlélni. A tapasztalt sejtszámok ismeretében kijelenthetjük, hogy e baktériumfaj speciális környezeti feltételek (úgy mint szénhidrogénnel szennyezett közeg, ill. komposzt) mellett tömeges szaporodásra hajlamos és tapasztalt élősejtszáma elérheti, vagy meghaladhatja az infektív dózis alsó határát. Közvetlen humán-egészségügyi kockázata mellett ez a tény egyben azt is jelzi, hogy e kórokozó adott közeg mikrobiotájában a közösség jelentős tagjává válhat.

Jelen munka keretében megállapítottuk, hogy a környezeti törzsek jelentős hányada (több, mint 90%-a) rendelkezik olyan közvetlen, vagy közvetett virulencia faktorral, mely egy esetleges betegség kialakításában kóroki szerepet játszhat. Vizsgálataink során igazoltuk, hogy a *P. aeruginosa* faj környezeti eredetű törzsei képesek lehetnek a klinikai izolátumokhoz hasonlóan kiterjedt, többszörös antibiotikum rezisztenciára, azaz multirezisztenciára, valamint korábbi munkánk során kísérletes úton bizonyítottuk a faj környezeti és klinikai eredetű izolátumainak széleskörű szénhidrogénbontó képességét (KASZAB ET AL. 2006). E tulajdonságok együttes ismeretében felülvizsgálatra szorul az a feltételezés, miszerint az extrém környezeti tényezőkhöz való alkalmazkodás következtében a speciális élőhelyek viszonyaihoz idomulva olyan mértékű specializáció menne végbe, mely egyes életképességgel, virulenciával, degradációs aktivitással, illetve antibiotikum rezisztenciával összefüggő tulajdonságok elvesztéséhez vezethetne.

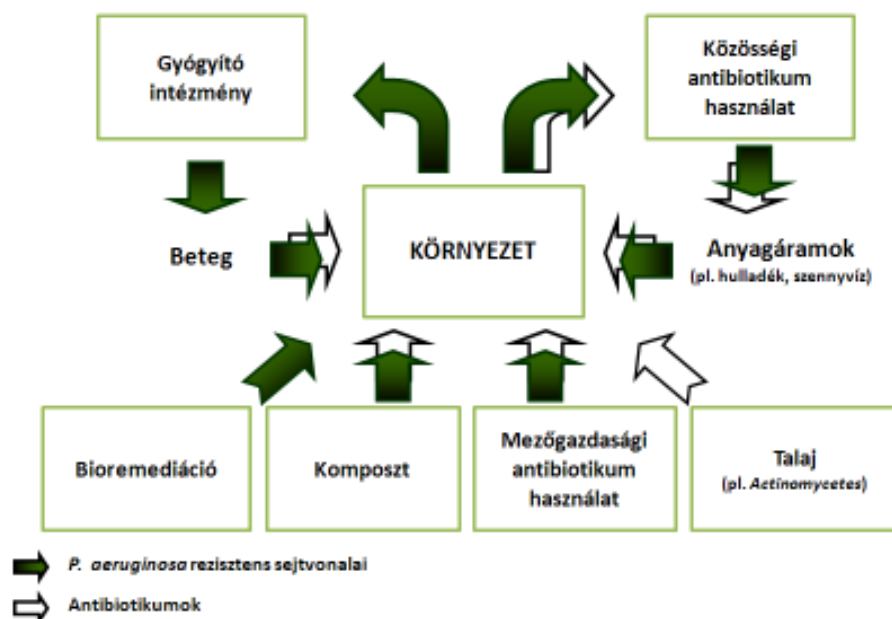
A vizsgálati eredmények közvetlen humán-egészségügyi vonatkozása lehet, hogy kármentesítési helyszínen bekövetkezett, *P. aeruginosa*-nak, vagy egyéb fakultatív patogéneknek tulajdonítható fertőzés esetén a helyszínről kitenyészett kórokozók patogenitásának, ill. antibiotikum rezisztenciájának ismerete a megfelelő készítmény, ill. terápia kiválasztását nagymértékben megkönnyítheti.

A multirezisztens törzsek kezelése azonban szinte megoldhatatlan feladat elé állítja az orvosokat, így mindennél fontosabb a rezisztencia kialakulásának megelőzése, késleltetése. Eredményeim alátámasztják, hogy hiperrezisztens környezeti törzsek megjelenése nem csupán a távoli jövőben lehetséges; bizonyítást nyert, hogy már létezik

multirezisztencia a gyógyító intézményeken kívül is, úgy szénhidrogénnel szennyezett területeken, mint komposztban.

Az antibiotikum-rezisztens környezeti izolátumok eredete még tisztázatlan és számos okra vezethető vissza. Ilyen az emberi szervezetből kiürült antibiotikumok jelentette szelekciós nyomás, melyek a szennyvízen keresztül környezetünkbe kerülve indukálhatják az ott élő baktériumtörzsek esetében a rezisztencia fokozódását. Hasonló eredménnyel járhatnak a mezőgazdasági használatban lévő antibiotikum készítmények is, melyek a mezőgazdasági hulladékkal, állati eredetű trágyával, komposztal juthatnak környezetünkbe. Feltételezhető továbbá, hogy a kórházi környezetben jelentősebb antibiotikum nyomásnak kitett, így átlagosnál nagyobb rezisztenciát mutató, vagy multirezisztens törzsek a gyógyult betegek, kórházi dolgozók, vagy a kórházi látogatók közvetítésével kikerülhetnek a környezetbe.

A megfigyelhető rezisztencia okai között minden valószínűség szerint nagy jelentősége van a spontán mutációknak, valamint a szerzett géneken kódolt, ún. átvihető rezisztenciának. Ez utóbbit igazolja például az azlocillin és a piperacillin esetében jelentkező fokozott antibiotikum-rezisztencia, amely szakirodalmi adatok alapján feltehetően szerzett béta-laktamázok megjelenésének tulajdonítható. A horizontális (például plazmidok által közvetített) rezisztencia-átvitel lehetősége ugyanakkor a klinikai és a környezeti *P. aeruginosa* törzsek között nem tisztázott, saját eredményeink alapján is további vizsgálatokat igényel. A multirezisztencia kialakulásának és



terjedésének lehetséges módjait foglalja össze a 7. sz. ábra.

**7. sz. ábra: A multirezisztencia mechanizmusok kialakulásának és terjedésének elméleti folyamatábrája
(KASZAB ET AL., 2010a)**

Mivel hazánkban a klinikai gyakorlatban is csak az utóbbi néhány évben tapasztalták a multirezisztens törzsek felbukkanását ezért várható, hogy a rezisztencia helyzet mind a kórházi, mind a környezetből izolált *P. aeruginosa* törzsek esetében romlani fog. A jövőre nézve fontos feladat tehát az antibiotikum-rezisztencia változások folyamatos nyomon követése a környezetből izolált baktériumtörzsek esetében is; további környezeti eredetű mintákból izolált *P. aeruginosa* törzsek vizsgálatával pedig pontosabb képet nyerhetünk a rezisztencia-mechanismusok terjedéséről.

Az eredmények tükrében felülbírálandó a biodegradációs eljárásoknak az a módja, melynek során a szénhidrogén-szennyezések helyszínén a talajban élő természetes mikrobapopulációt szaporítják fel, illetve faj szinten azonosíthatatlan oltóanyagot juttatnak ki. Az említett módszerekkel a *P. aeruginosa* és egyéb patogének - gyakran antibiotikumokkal szemben ellenálló - törzsei elszaporodhatnak és elérhetnek egy esetleges fertőzés kialakulásához elegendő élősejt-számot is.

A biodegradációs eljárásokra hazánkban alkalmazott, szigorú jogi szabályozást [16/2002 (IV.10.) EüM. rendelet] az ismertetett eredmények alapján és szükséges fenntartani. A patogén mikroorganizmusok környezetbiztonsági jelentőségének felismerése és további megerősítése reményeink szerint elősegíti a nemzetközi jogszabályi háttér kidolgozását is. A kármentesítésekben dolgozók egészségének védelme érdekében mindenképpen szükséges a betegséget okozó mikroorganizmusok minél hatékonyabb kizárása a munkafolyamatokból; különösen a nagy élősejt-számot elérő oltóanyagok esetében.

A természetes mikrobaközösségre gyakorolt hatások tekintetében elmondható, hogy a *P. aeruginosa* faj esetében előforduló virulencia determinánsok (hemolitikus aktivitás, exoenzimek és exotoxinok termeléséért felelős génszakaszok jelenléte), illetve az antibiotikum rezisztencia kódolásáért felelős génszakaszok gyakran a bakteriális genom olyan részein helyezkednek el, melyek G+C összetétele eltér a bakteriális genom többi részén tapasztaltaktól. Ebből arra következtethetünk, hogy ezek a génszakaszok horizontális géntranszfer útján kerülhettek adott baktériumtörzs genetikai állományába. Joggal felmerül tehát annak a lehetősége, hogy a betegség kialakítására képes, esetlegesen többszörös antibiotikum rezisztenciával jellemezhető *P. aeruginosa* baktériumtörzsek a környezetben e tulajdonságok rezervoárjául szolgálhatnak, azaz átadhatják a kódolásukért felelős génszakaszokat a természetes mikrobiota tagjainak. Amennyiben ez a feltételezés helytálló, a virulens és rezisztens környezeti izolátumok

közvetlen és közvetett módon egyaránt veszélyeztethetik a humán egészséget, valamint a természetes mikrobiális ökoszisztéma összetételét és genetikai állományát is kedvezőtlen irányba befolyásolhatják.

E kedvezőtlen hatások kiküszöbölésére javasolt a szénhidrogénnel szennyezett kárhelyek folyamatos monitoringja, valamint a patogén mikroorganizmusok kontrollja, illetve a jogszabályi előírások maradéktalan betartása. A komposztálás folyamatát tekintve javasolható a technológiai előírások maradéktalan betartása, ill. adott szituációban a magasabb higiénizáltsági fokú végterméket garantáló eljárás választása. A komposzt termékek minősítésére vonatkozó 23/2003. (XII.29.) KvVM rendelet a *P. aeruginosa* esetében nem állapít meg higiénés határértéket a kész komposztra vonatkozóan, mely jelen eredmények és a nemzetközi szakvélemény tükrében a jövőben átgondolandó lehetőség.

6. A TÉMÁBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓK LISTÁJA

Folyóiratcikk:

Kaszab, E., Kriszt, B., Atzél, B., Szabó, G., Szabó, I., Harkai, P., Szoboszlay, S. (2010a): The occurrence of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* on hydrocarbon contaminated sites. *Microbial Ecology*, 59 (1): 37-45. [IF(2009): 3,251]

Kaszab, E., Szoboszlay, S., Dobolyi, Cs., Háhn, J., Pék, N. & Kriszt, B. (2010b): Antibiotic resistance profiles and virulence markers of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from composts. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2010.08.027 [IF(2008): 4,253]

Kaszab E., Pék N., Farkas M., Kriszt B. & Szoboszlay S. (2010c): Környezeti eredetű *Pseudomonas aeruginosa* törzsek virulenciájának vizsgálata. *Tájökológiai Lapok*, 8 (1) 135-146.

Kaszab, E., Bedros, J. R., Szoboszlay, S., Atzél, B., Szabó, I., Cserháti, M., Kriszt, B. (2006): Problems with environmental safety on bioremediated sites. *AARMS, (Academic and Applied Research in Military Science)*, 5 (3) 383-397.

Teljes közlemény konferencia kiadványban:

Szabó, I., Háhn, J., Harkai, P., Kaszab, E., Szoboszlay, S. (2009): Effects of heavy metal components on hydrocarbon degrading bacteria as abiotic stress on hydrocarbon contaminated sites. *Cereal Research Communications* 37 (Suppl 4): 561-564.