



n é b i h

Termőföldtől az asztalig

A fertőtlenítőszeres hatásosságának korlátai napjainkban

*dr Gulyás Márta Emőke
NÉBIH ÉTBI
2016. június 22.*



Rezisztencia a fertőtlenítőszerekkel szemben



A fertőtlenítőszer alkalmazása évtizedeken át hatásos eszköz volt a kórokozó baktériumok elleni küzdelemben. A készítmények használata a biztonságos élelmiszer-termelés területén jelentős eredményeket hozott, éppúgy, mint a járványok leküzdésében.

Napjainkra problémát okozó jelenségek:

- rezisztens törzsek elterjedése (QAC, azol-fungicidek)
- MDR törzsek szelekciója, gén-indukció, mutagenitás
- A szermaradékok környezetkárosító hatása (pl. Triclosan)



A rezisztencia kialakulása



- A környezetünkben élő mikroorganizmusok alkalmazkodó képességét genetikai változatosságuk biztosítja.
- Évmilliárdok óta használnak gátló anyagokat az életterükért folytatott küzdelemben;
- Óriási egyedszámban népesítik be a környezetet, rezisztencia génjeiket képesek kicserélni, nem-rokon fajok között is;
- Napjainkban a gyrase gátló **fluorokinolonokról** kiderült, hogy **mutagének: 80-120 x „jackpot”** mutációkat képesek előidézni. Felhasználásuk igen elterjedt. Sajnos ez hatással lehet új fertőtlenítő rezisztencia variánsok megjelenésére is.

Effect of subinhibitory concentrations of ciprofloxacin on Mycobacterium fortuitum **mutation rates**. Gillespie SH. et al. (2005) J. A. C. 56:344-348.



A rezisztencia kialakulása



- **Ahol a mikroorganizmusok táplálékot és életteret találnak,** szaporodni fognak. **Gátló anyag jelenlétében** (szelekciós nyomás) a nagy diverzitású természetes flóra helyén a **rezisztens fajok / mutánsok tömege szaporodik el.**
- Az antibiotikum szermaradékok rezisztens törzseket szelektálnak. Ugyanez történik egyes fertőtlenítők esetében is.
- Így a környezeti baktériumflórában a rezisztencia gének egyre bővülő kínálata jelenik meg, amelyet a **kórokozók is** hasznosítanak.



Az antibiotikum szermaradékok rezisztens törzseket szelektálnak. Ugyanez történik egyes fertőtlenítők esetében is.

- GUARDABASSI, L., DALSGAARD, A. (2002): Occurrence and fate of antibiotic resistant bacteria in sewage. Environmental project No. 722.
<http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2002/87-7972-266-0/pdf/87-7972-267-9.pdf>
- FAO/OIE/WHO (2006): Report of a Joint FAO/OIE/WHO Expert Consultation on **Antimicrobial Use in Aquaculture** and Antimicrobial Resistance. Seoul, Republic of Korea, 13–16 June 2006.
http://www.fao.org/ag/agn/food/risk/antimicrobial_en.stm
- **Impact of environmental usage of triazoles** on development of resistance to medical triazoles in *Aspergillus* spp.
ECDC Technical Report, Stockholm 2013. doi 10.2900/76274
- Fluoroquinolone-Resistant *Campylobacter* Species and the Withdrawal of Fluoroquinolones from Use in Poultry: A **Public Health Success Story**. Nelson JM. et al. (2007) Clinical Infectious Diseases 44:977–80

Ipari tapasztalatok



- Már 1984-ben jelent meg közlemény a klórozással kezelt szennyvíz flórájának megváltozásáról: a baktériumszám csökkent, ugyanakkor az életben maradó baktériumok között az *E. coli* aránya visszaesett, megnőtt a potenciális kórokozók előfordulása, és a klórral kezelt flóra 98%-a rezisztensnek bizonyult egy vagy több *antibiotikummal* szemben. Ez a **cross rezisztencia** jelensége.

Effect of chlorination on antibiotic resistance profiles of sewage-related bacteria. Murray GE. et al. (1984) Appl. Env. Microbiol. 48: 73-77.

- Kórházi környezetben is leírtak fertőtlenítő rezisztenciát (QAC, MRSA)



Ipari tapasztalatok



- Ugyanakkor az élelmiszeriparban a fertőtlenítő rezisztencia kevésbé gyakori.
- Az élelmiszeripari környezet lehetővé teszi perzisztens *E. coli* és *Listeria* törzsek jelenlétét. Ám ezek a törzsek **nem bizonyultak rezisztensnek** a felhasznált fertőtlenítő szerekkel szemben, fennmaradásukat sokkal inkább a hűtőipari környezethez való fizikai adaptáció segítette elő. (UK, 2002)

Biocide use in food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*.
Holah JT, et al. (2002) *J. Appl. Microbiol.* 92: 111S-120S



Ipari tapasztalatok



- Szardíniai szárazkolbász feldolgozó üzemek (4 db), termékeiben kontrolláltan 100 cfu/g alatt maradt a *Listeria* szám. A vizsgált *Listeria* törzsek (385 minta/ 173 izolátum / 35 törzs) heterogének; nincs preferencia a szerotípus és virulencia gének alapján; nincs magas biofilm képző képességük, és **érzékenyek az alkalmazott fertőtlenítőkkel szemben**. A szerzők felhívják a figyelmet a padlóösszefolyókra mint kritikus lerakódási /biofilm képzési helyekre.

Listeria monocytogenes persistence in ready-to-eat sausages and in processing plants. Mureddu A, et al. (2014) Italian J. Food Safety 3.





A fertőtlenítés utáni mikrobátúlélés okai

- A vártnál gyorsabb szaporodás ill. nagy tápanyag-kínálat
- Biofilm képződése. Felületen tapadó, több komponensű bakteriális konzorcium; védelmet nyújt a stressz tényezőkkel szemben.
- A több lépcsős gyártási procedúra többszöri csíraszám-csökkentést céloz, közben a vissza-szennyeződés esélye mindig veszélyt jelent.
- Sajnos előfordul, hogy a felhasználó nem ismeri az adott szer hatásspektrumát; nem számol a szerves anyag terheléssel; nem ismeri a kémiai összetevők kölcsönhatásait (anionos-kationos tenzidek.)
- Cross rezisztencia

A fertőtlenítés utáni mikrobatúlélés okai

- A rezisztens törzsek a terület saját flórájának töredékében (10^{-6} vagy kisebb arányban) **megbújnak, messze a kimutathatósági határ alatt.**
- Ha táplálékuk van, az elpusztított konkurens flóra hiányában, **órák alatt elszaporodnak.**
- Ez az állattartó telepekre (antibiotikumok) és a feldolgozó üzemekre (fertőtlenítés) egyaránt érvényes.
- Ha a szerhasználatban változás történik, nem mindig az ott jelenlévő törzs lesz rezisztensebb. Inkább azt látjuk, hogy új törzs fog betelepülni, más antibiotikum- ill. fertőtlenítőszer-érzékenységgel.



Az infrastruktúra hatása

- A nedvesség a falakon, kiváltképp ha lambéria / bútor takarja, a penész megtelepedését segíti. Csak a száraz felület, és a megfelelő szellőzés segíthet.
- A paraziták, **raktári kártevők** kórokozókat hurcolnak be; a mosófolyadékok (zöldség) és áruházi átcsomagolás közvetíthet kórokozókat;
- A lefolyók, padló-összefolyók, de a csővezetékek is, gyakran szolgálnak baktériumok búvóhelyéül.
- Az ipari felmérések a perzisztens törzseket az alkalmazott fertőtlenítőkkel szemben érzékenynek találták!

Efflux pumpa mechanizmusok



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

- A baktériumok fertőtlenítő rezisztenciája leggyakrabban efflux-pumpa mechanizmusokra vezethető vissza; az *E. coli* és *Pseudomonas* törzsek QAC rezisztenciája viszonylag hamar megjelent. (RND, MFS, SMR)
- Kimutatták azt is, hogy a fertőtlenítők képesek indukálni olyan effluxokat, amelyek antibiotikum rezisztenssé teszik a baktériumot.
- Ismert a *Staphylococcus* klórhexidin rezisztenciája is (MFS).



Efflux pumpa mechanizmusok



- Az újabb közlemények már olyan efflux génekről számolnak be, amelyek több hatóanyag eltávolítását is irányítják a baktériumsejtből : MIC↑: akriflavin (8, 16); benzalkonium klorid (4, 6); klórhexidin (8, 2); EtidiumBr (16, 8); SDS (6, 12); tetrafenilfoszfonium klorid (12, 36).
- Más védekezési mechanizmus a génállomány sérülésekor bekövetkező **SOS-reakció: az UV fény, szuperoxid gyökök, szalicilátok illetve fluorokinolonok** jelenlétében a túlélő sejt tovább szintetizálja az örökítő anyagát, de a mutációk száma sokszorosra nő.



Efflux pumpa mechanizmusok



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

- *Pseudomonas aeruginosa* cells adapted to **benzalkonium chloride** show resistance to other membrane active agents... Loughlin MF et al. (2002) JAC 49: 631-639. (Cross rezisztencia QAC-al; klórhexidin, Triclosan É)
- Induction of mexCD-oprJ operon for a MDR efflux pump by disinfectants in wild-type *P. aeruginosa* PAO1 Morita Y et al. (2003) JAC 51: 991-994. (Benzalkonium klorid, klórhexidin indukciót vált ki; a szubsztrátok: Carbenicillin, Chl., Str., Ery., kinolonok, Tetr. nem indukálnak)
- Novel role of *Acinetobacter baumannii* RND efflux transporters in mediating decreased susceptibility to biocides Rajamohan G et al. (2010) JAC 65: 228-232. (akriflavin (8, 16); benzalkonium klorid (4, 6); klórhexidin (8, 2); EtBr (16, 8); SDS (6, 12); tetrafenilfoszfonium klorid (12, 36))



Modulation of Antibiotic Efflux in Bacteria. Nelson ML. (2002)
 Curr.Med.Chem. - Anti-Infective Agents 1: 35-54.



n é b i h
 Termőföldtől az asztalig

Csoport	Szubsztrátok	Bakteriális gazdák
Major Facilitator Superfamily	Antibiotikumok, QAC , foszfonium ionok, klórhexidin , organikus kationok	<i>Mycobact.</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Staph.</i> , Aerob spórások, <i>E.coli</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Streptococcus</i>
Resistance Nodule cell Division	Detergensek, zsírsavak, Antibiotikumok (multiple)	<i>E.coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Haemophilus</i>
Small Multidrug Resistance	QAC, antibiotikumok, tetrafenil-foszfonium	<i>E. coli</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Staph.</i> , Aerob spórások
ABC type transporters	Ionoforok, ethidium-alkaloidok, Erythromycin	<i>E. coli</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Staph.</i>
Multidrug And Toxic cp. Extr.	Fluorokinolonok, aminoglikozidok	<i>Vibrio</i> , <i>Haemophilus</i> , Aerob spórások

Triazolok és az Aspergillus

Impact of environmental usage of triazoles on development on medical triazoles in *Aspergillus ssp.* **ECDC Technical Report.**



- Hollandiában (1998.) megjelent egy multirezisztens törzs, az *A. fumigatus* **TR34/L98H mutáns**, magas fertőző képességgel, és jó versenyképességgel,– majd Spanyolország (2003) UK (2006) DK (2007) AT, Be, Fr, It (2009) Ger (2012) következett.
- A rezisztenciát hordozó törzsek genetikailag azonosnak bizonyultak. Az aspergillosis emberről emberre nem fertőz; a betegek között epid. kapcsolat nem volt;
- Egy sikeres törzs határokon át történő terjedése történt, és a törzs **környezeti mintákból is széles körben kitenyészett.**
- Ez két évvel azután történt, hogy a **mezőgazdaságban** széles körben bevezették a triazol fungicidek és **felületfertőtlenítők** használatát.



Triazolok és az Aspergillus

Impact of environmental usage of triazoles on development on medical triazoles in *Aspergillus ssp.* **ECDC Technical Report.**



- A törzs megjelenése **(1998)** a triazol fungicidek **mezőgazdasági** bevezetését **(1996)** követte, időközben a cross rezisztenciát adó fungicidekből csak **UK**-ban évente **350 tonnát** használt fel a mezőgazdaság, **DK**-ban 200 tonnát.
- A hatóanyagokat a **gabona, repce**, konyhakerti növények védelmére, **épületfa** felületi kezelésére (Wolmanized, Tanalith) és golfpályák ápolására használták fel, de a hobbikertészek is használták.
- (kórh.: Itra- Posa- Voriconazole; mg.: Propi- Tebu- Epoxi- Difenoconazol, Bromucazol)



Triazolok és az Aspergillus

Impact of environmental usage of triazoles on development on medical triazoles in *Aspergillus ssp.* **ECDC Technical Report.**



- A **TR34/L98H** törzs környezeti úton terjed.
- Az invazív és tüdő-aspergillozisok kezelésében kiemelkedő szerepe van a **triazol fungicideknek**, de első választandó gyógyszer az Aspergillus eredetű allergiás bronchitis (ABPA) és cysticus fibrosis kezelésében is.
- A betegek száma Európa lakosságán (773 M) belül, évente 887 ezer (ABPA) 240 ezer (CPA) illetve 7000 fő (invazív, leuk., transpl.) Számukra csak az iv. adható Amfotericin B marad...
- Kimutatták a **TR34/L98H** variánst Indiában és Kínában is. Új variáns: a TR46/Y121F/T289A is megjelent (NL, 15 kórházi betegben, sporadikus) – és kimutatták a környezetből is.



Mikor várunk túl sokat?



A fertőtlenítőszer alkalmazása évtizedeken át hatásos eszköz volt a kórokozó baktériumok elleni küzdelemben. Ez a kezdetben nagyon sikeres tevékenység azonban célt tévesztett:

1. Az alkalmazás technológiai feltételeinek biztosítása, **megfelelő infrastruktúra** kialakítása területén (pl. a nukleáris medicina háttere sokkal kidolgozottabb!)
2. A célzott alkalmazás helyett **túl széles körben**, széles spektrummal kerültek bevetésre a szerek;
3. A „célpont” kijelölésében: a szükséges területen, magas **hozzáadott értékkel** történő fertőtlenítés helyett minden baktériumot/gombát el akarunk távolítani a környezetünkől.



Mikor várunk túl sokat?



- Amikor divatba jött a fürdőkádat is fertőtleníteni... Fontos lenne a csíramentes és a tiszta felületek értékének megőrzése!
- Amikor a megfelelő, könnyen tisztítható felületeket, a jó infrastruktúrát, a felhasználók szakmai tudását akarjuk fertőtlenítőkkel kiváltani ...
- Amikor 60 másodperc hatásidővel tökéletes lenne a szer, de kikényszerítjük a 30 másodpercet, és ráírjuk a 36 hónapos lejáratot ...
- Amikor 60 fokon megy a (mosó)gép, mert 62°C-t nem lehet beállítani...





n é b i h
Termőföldtől az asztalig



Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal





n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Biztos, hogy a külső környezet nem lesz hatással a benti környezetre?



Mit javasolunk a jelenség visszaszorítása érdekében?



- Megfelelő *szennyvíz- és trágya-kezelésre* van szükség, amely lehetővé teszi a szermaradékok lebomlását.
- Az egészséges, érzékeny *normál flóra visszaállítására* kell törekedni az állatállományokban, élő vizekben és a talajban is.
- Szükség van a szerek alkalmazásának minimálisra korlátozására: *szermaradék-mentes környezet kialakítására.*



A holisztikus fertőtlenítési és infekció kontroll szemlélet rendszerben gondolkodik



A kórokozók elpusztítása önmagában nem elég;

Szükséges *a rezervoárok* kontrollja.

Az élelmiszerlánc épségének megőrzése:

hatékony hulladék-gazdálkodás.

„több fertőtlenítőszer” helyett

zárt technológiák, fejlett háttérstruktúra

Csíramentes / tiszta területek felértékelése;

szermaradék mentes környezet létrehozása!





n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Változtatnunk kell a baktériumokról kialakított szemléleten is.

- **A mikroorganizmusok nem az ellenségeink! Nélkülük nem volna élet a Földön; termőtalaj, tiszta víz; mezőgazdasági termelés.**



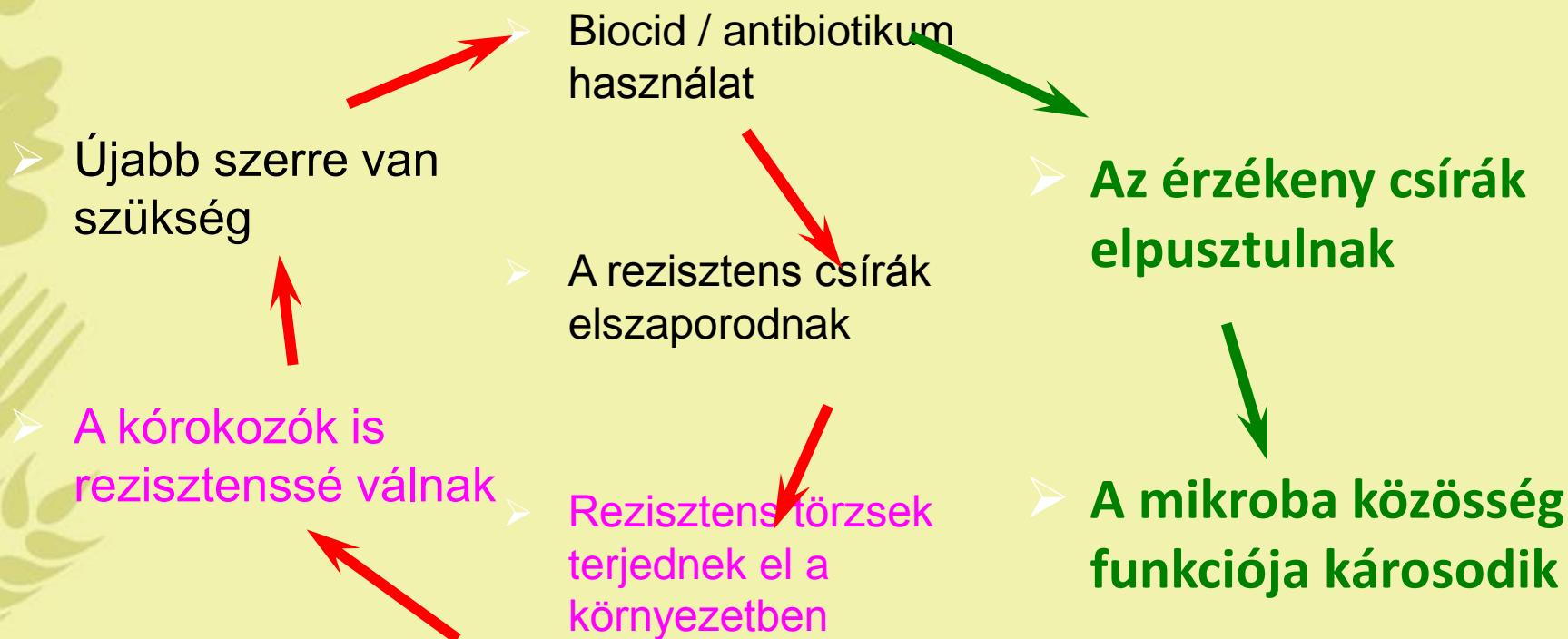
A baktériumok teszik élővé és lakhatóvá a Földet.



- Beállítják a talaj vízkapacitását, stabillá teszik szerkezetét, így mérséklék az áradások és aszály súlyosságát. Megkötik a nitrogént, felvehetővé teszik az ásványi anyagokat a növények számára.
- Élővé és lakhatóvá teszik az óceánokat: biztosítják a CO₂ megkötő korallok, a mangrove erdők életfeltételeit. (A Föld „tüdeje”)
- A sós vízi algák **DMS** (dimetil-szulfid) termelése teszi lehetővé a **stabil felhőtakaró kialakulását**, ezáltal **kiegyenlíti a szárazföld csapadékellátását**, mérsékli a hőingást.



A kontrollálatlan biocid használat súlyosan károsítja a környezeti mikroflórát.



A mikroflóra diverzitását meg kell őriznünk.



- A talajbaktériumok a bélflórához és az ipari flórához képest érzékenyebbek;
- nagy az egymásra utalt fajok száma, számuk kevesebb a mátrixban, több stressz-hatásnak vannak kitéve.
- A biocidekkel való találkozás bizonyos fajok számára nem teszi lehetővé az alkalmazkodást: az ő funkciójuk kiesik. – és az egész tápláléklánc, és az ökológiai szolgáltatás is sérül.





n é b i h
Termőföldtől az asztalig

A baktériumok teszik élővé és lakhatóvá a Földet. Az általuk alkotott biomassza a Föld legértékesebb megújuló forrása.

