



SZENNYVÍZEREDETŰ, ANTIBIOTIKUM REZISZTENS MIKROSZERVEZETEK SZEREPE A MIKROMŰANYAGOK KOLONIZÁCIÓJÁBAN

**The role of sewage originating, antibiotic resistant microorganisms in the
colonization of microplastics**

TDK DOLGOZAT

Készítette: **Dzsudzsák Emília Laura**
Környezetmérnök, BSc
Nappali
Szent István Campus

Témavezető: Dr. Kaszab Edit, egyetemi docens,
MATE Akvakultúra és Környezetbiztonsági
Intézet, Környezetbiztonsági Tanszék,
Szent István Campus

**Gödöllő
2022**

Tartalom

1.	Bevezetés és célkitűzések	2
2.	Szakirodalmi áttekintés	3
2.1.	A szennyvíz	3
2.2.	Szennyvíz és csatornahálózat Magyarországon	3
2.3.	Főbb szennyvíztisztítási technológiák	5
2.4.	A tisztított szennyvízre vonatkozó jogszabályi határértékek.....	7
2.5.	Mikroműanyagok.....	8
2.6.	Gyógyszermaradványok, antibiotikumok.....	11
2.7.	Antibiotikum használat és antibiotikum rezisztencia	14
2.8.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
2.9.	Biofilm képződés.....	17
3.	Vizsgálati módszerek	18
3.1.	Mintavételezés	19
3.2.	Tenyésztéses mikrobiológiai vizsgálatok	20
3.3.	Faj szintű identifikáció	21
3.4.	Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok.....	24
3.5.	Biofilmképzés vizsgálatai.....	25
4.	Eredmények és értékelések.....	27
4.1.	Helyszíni és fizikokémiai vizsgálatok eredményei	27
4.2.	Antibiotikum és gyógyszermaradványok	27
4.3.	Colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek száma és összetétele	29
4.5.	Antibiotikum rezisztencia vizsgálat eredményei	32
4.6.	Biofilmképzés vizsgálatának eredményei.....	33
5.	Következtetések és javaslatok.....	34
6.	Összefoglalás	36
7.	Köszönetnyilvánítás	38
8.	Irodalomjegyzék.....	39
9.	Mellékletek	44

1. Bevezetés és célkitűzések

Napjainkban a mezőgazdaság, valamint a humán-, és állatgyógyászat jelentős mértékben használ különböző antibiotikumokat, melyek különböző anyagáramok (trágyahasználat, szennyvízbevezetés) közvetítésével bekerülhetnek a felszíni vizekbe, ami a környezetben elősegíti az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek és rezisztencia gének elterjedését. Ezek a kockázatot jelentő anyagok így könnyedén befolyásolhatják a felszíni vizek mikrobiális ökoszisztémáját, ezáltal környezetegészségügyi kockázatot jelentenek. Kutatások igazolták, hogy a mikroműanyagok az emberi tevékenység hatására felszíni vízi környezetben gyakran és nagy számban kimutathatók. Mivel a mikroműanyagok felületén számos, humán-, és környezetegészségügyi jelentőséggel bíró (patogén, biofilmképző, antibiotikum rezisztens) mikroorganizmus telepedhet meg, így a mikroműanyagok az egészségre ártalmas mikroszervezetek elterjedését elősegítő vektornak is tekinthetők.

A szennyvíz mindhárom esetben (mikroműanyagok, antibiotikum rezisztens mikroszervezetek, antibiotikum rezisztencia gének terjedése) kulcsszerepet játszik, azonban a szennyvíztisztításban és a tisztított szennyvízre nézve jelenleg nincs semmilyen szabályozás a felsorolt paraméterekre vonatkozóan. Mivel kevés információnk van az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek által okozott problémáról és annak lehetséges következményeiről a mikroműanyagok vonatkozásában, ezért fő motivációm a műanyagfelületen biofilmképzésre képes, antibiotikum rezisztens mikroszervezetek azonosítása volt szennyvízterhelés alatt álló felszíni vízfolyásokban. A Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézete (MATE-AKI) aktív részese a mikroplasztik kutatásoknak, így munkám szervesen kapcsolódik az intézet pályázati tevékenységéhez.

Mindezek alapján célul tűztem ki:

- Magyarországi, szennyvízterhelés alatt álló felszíni víztestek esetében a befogadóban kimutatható, antibiotikum rezisztens mikroszervezetek gyakoriságának előzetes felmérését 3 mintavételi helyszínen.
- A szennyvízzel terhelt befogadóba mesterségesen, ún. plastic colonizer módszer (Szabó et al. 2021) segítségével kihelyezett mikroműanyagok felületét kolonizáló, biofilmképzésre hajlamos mikroorganizmusok közül az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek szelektív azonosítását szelektív és differenciáló Chromatic táptalajon.
- A közegészségügyi jelentőséggel bíró fajok közül a kiemelt jelentőségű *Pseudomonas aeruginosa* faj képviselőinek jellemzését (antibiotikum rezisztencia, biofilmképző képesség).

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A szennyvíz

A felszíni vizek minőségének védelméről szóló 220/2004. (VII. 21.) hatályos Korm. rendelet alapján szennyvíznek minősül a „termelési, szolgáltatási, fogyasztási tevékenység során használt, a használat – illetve az üzemi területen összegyűlő csapadékvizek esetében bemosódás vagy keveredés – következtében fizikai, kémiai vagy biológiai minőségében megváltozott, vízszennyező anyagot tartalmazó víz” (220/2004. Korm. r.). A szennyvíznek több típusát is megkülönböztetjük. Kommunális szennyvíznek nevezzük azt a szennyvizet, amely olyan területről származik, ahol állandó az emberi jelenlét és rendszeres háztartási tevékenység folyik (ennek következtében legnagyobb mennyiségben anyagcseretermékeket tartalmaz), nem mutatható ki belőle csapadék-, illetve talajvíz, továbbá minőségében nem tekinthető veszélyes hulladéknak. Azt a szennyvizet, amely nem a háztartásokból, hanem ipari és kereskedelmi tevékenységekből származtatható és szintén nem minősül veszélyes hulladéknak, összefoglalóan ipari szennyvízként említjük (58/2013. Korm. r.). Az iparban elszennyeződött technológiai víz szigorú szabályozások mellett kerül tisztításra, ártalmatlanításra, mivel a technológiai sorok különböző pontjain gyakori a felhasznált víz nehézfémekkel, toxikus szerves anyagokkal stb. való elszennyeződése (Tamás, 2008). A 220/2004. Korm. rendeletben foglaltak szerint az ipari szennyvíz tisztítása megtörténhet a létesítmény saját tisztítótelepén, illetve a közműre való rácsatlakozás is engedélyezett annak függvényében, hogy mely szennyező anyagok jelennek meg a technológiai vízben. A mezőgazdaságban keletkezett szennyvíz az agrokémiai állomások szennyvize, a kémiai anyagokat szállító járművek mosóvize, valamint a mélyalmos állattartás mosóvize (Kaszab 2022). A különböző kategóriájú szennyvizeket más-más módon szükséges kezelni a megfelelő tisztítási hatások elérésének érdekében.

2.2. Szennyvíz és csatornahálózat Magyarországon

A lakossági szennyvíz gyűjtésére néhány település (például Budapest) kivételével Magyarország jelentős részén elválasztott rendszerű csatornahálózat került kialakításra, azaz a csapadékvíz nem köthető rá a szennyvízelvezető csatornahálózatra, hanem egy külön csapadékvíz-csatornán keresztül kerülhet elvezetésre, vagy ennek hiányában az adott területen szükséges a lehulló csapadékot elszikkasztani. Az elválasztott jellegű csatornarendszer azért előnyös, mert a kisebb mennyiségű és töményebb szennyvíz könnyebben tisztítható, hátránya azonban, hogy töménysége miatt gyakran előfordulhat a hálózaton belül dugulás. Emellett a két párhuzamosan működő csatornahálózat kiépítési és üzemeltetési költségei magasabbak a Budapesten kialakított egyesített csatornarendszerhez képest, melyben a szennyvíz és a

csapadékvíz együtt kerül elvezetésre (Öllös 1990). A lakosság révén nagy mennyiségű szervesanyag kerül be a szennyvízhálózatba, melynek döntő többségét az emberi szervezet által átalakított tápanyagok, azok bomlástermékei, kisebb hányadát a hálózatba juttatott ételmaradékok teszik ki. A kommunális szennyvíz gravitációs vagy kényszeráramlású rendszerben, a lakosság által termelt szürkevíz (minden olyan hulladékvíz, ami a háztartásokban a fürdés, főzés és mosás következtében keletkezik, de nem tartalmazza az emberi anyagcsere termékeit) és a WC-k öblítéséhez használt víz segítségével jut el a háztartásokból a tisztítótelepre. A szennyezettséget alapul véve, a szakirodalom szerint két különböző csoportba soroljuk a szürkevizet. A kevésbé szennyezett, „light greywater”-ként nevezett szürkevízben nagy számban megtalálhatók úgynevezett detergensok (emulzió kialakítására képes felületaktív anyagok, melyek egy hidrofób és egy hidrofil komponensből állnak) (Németh 2019), ezeket a tisztálkodási szerek maradékai (pl. szappan, tusfürdő), továbbá az emberi testfelületről származó zsírok és olajok képzik. A másik csoportba a szennyező anyagokkal jóval intenzívebben terhelt „dark greywater” elnevezésű szürkevíz tartozik, mely leginkább mosásból és mosogatásból származó vegyi anyagokat, műszálak textilekből leváló mikroműanyagokat, illetve olajos és zsíros ételmaradékokat tartalmaz (Ghaitidak 2013).

Magyarországon egy fő átlagosan 100-110 liter vizet fogyaszt el naponta. Ez az érték a valóságban lehet sokkal kevesebb és több is, attól függően, hogy kisebb vagy nagyobb lélekszámú település vízfogyasztását vizsgáljuk (Kalmár 2014). A napi átlagos vízhasználat és vízszennyezés ismeretében könnyen kiszámolható a lakossági szennyvizek szennyezettsége. Meghatározásra került egy átlagérték, mely alapján megadható egy lakos mindennapi átlagos vízfogyasztásához viszonyítva a vízszennyezése is (ún. lakosegyenérték - LEÉ) a szennyvíztisztítóba beérkezett szennyvíz 5 különböző paraméterének a rendszeres ellenőrzésével, melyek az alábbiak (Kárpáti 2011):

1. Táblázat: A szennyvíztisztítóba érkező lakossági szennyvíz átlagos vízszennyezése lakossági egyenértékben (LEÉ) kifejezve (Kárpáti 2011 alapján)

Paraméter	Lakosegyenérték (LEÉ)
BOI ₅ (öt napos biológiai oxigénigény)	60 g / fő / nap
KOI (kémiai oxigénigény)	110 g / fő / nap
Lebegőanyag tartalom	60 g / fő / nap
Redukált nitrogéntartalom	13-14 g / fő / nap
Összes foszfor	2 g / fő / nap

Jelenleg a világ minden táján jelentős környezetvédelmi problémát jelent az élővizek elszennyeződése az ipar, a mezőgazdaság és a lakosság által. A népességnövekedéssel, a lakott területek terjeszkedésével szignifikáns mértékben nő a lakossági szennyvíz mennyisége, melynek jelentős hatása van a természetes vizek állapotára nézve. A szennyezés környezetbe való kikerülésének megakadályozására különféle szennyvíztisztítási technológiákat fejlesztettek ki és alkalmaznak ma is, melyek közül a legfontosabbakat az alábbi alfejezetben mutatom be.

2.3. Főbb szennyvíztisztítási technológiák

A főbb szennyvíztisztítási technológiák közé soroljuk a „wetland”-eket, melyek tájba illő, mesterségesen létrehozott mocsarak, szabad felszínű vizes, azaz nádistavas vagy felszín alatti átfolyású, más néven gyökérszénázás szennyvíztisztító rendszerek. Létesítésük és üzemeltetésük igen költséghatékony, ellenben a folyamatok lassan játszódhatnak le és alkalmazásuk során magas a biológiai kockázat (Németh 2004). A csepegtetőtestes eljárásnál a szennyvíz szervesanyag lebontása egy biológiai hártyán (biofilmen) történik, melyet helyhez kötött mikroszervezetek végeznek aerob körülmények között (Zsolnai 2014). Igen elterjedt az eleveniszapos tisztítási eljárás, ahol szintén mikroorganizmusok bontják le a kezeletlen víz szervesanyag tartalmát, azonban a mikroszervezetek ebben az esetben szabadon áramolnak a kevertetett medencében (Barótfi, 2000). Az FCR (Food Chain Reactor) rendszerek különlegessége, hogy egyesítik a biofilmes, az eleveniszapos és a gyökérszénázás tisztítási eljárásokat. A biofilmes és az eleveniszapos eljárásra telepített wetland csökkenti a szennyvíz szervesanyag tartalmát, mellyel hatékonyabbá teszi a mikroszervezetek lebontási folyamatait (Szaniszló 2020).

Magyarországon az eleveniszapos szennyvíztisztítási technológia a legelterjedtebb, ezért a továbbiakban ezt mutatom be részletesen. A szennyvíztisztító telepre való beérkezése után a szennyvíz kezelését *elsőfokú*, azaz fizikai tisztítási módszerekkel kezdik meg, elsőként egy kő-, és kavicsfogón folyik át, amit a nagy, 5-20 cm méretű szilárd anyagok megfogására alkalmaznak. Ezt követően a beérkező víz útja egy durvarácson vezet át, ami az 50 mm-nél nagyobb úszó, lebegő hulladékok kiszűrésére alkalmas (pl. fa hulladékok, állati maradványok, nedves törlőkendők, intimhigiéniai hulladékok stb.), ezt pedig a finomrács követi, ami az 50 mm-nél kisebb átmérőjű lebegőanyagokat fogja fel. A rácsokról lekerülő hulladékanyagot veszélyes hulladékként szükséges kezelni. Gyakran alkalmaznak rácsszeméltérpreket a különböző méretű, rácson fennakadt hulladékok víztartalmának csökkentése érdekében, hogy később gazdaságosabb legyen azok elszállítása, illetve megsemmisítése. A technológiai

sor előbb említett elemeihez a beérkező szennyvizet általában valamilyen föld feletti építménybe vezetik átemelőszivattyúk segítségével a csatornahálózathoz, ahonnan a gravitációs erők segítségével képes átfolyani a szennyvíz a különböző tisztítási fázisokon. Átemelés után finomabb szűrési mechanizmusok következnek, homok-, illetve zsírfogókat is alkalmaznak a különböző méretű homokszemcsék és zsírcseppecskék felfogására, mert a rendszerbe kerülve ezek a technológiai sor különböző szegmenseiben okozhatnak károsodást (pl. a homok lerakódhat, koptathatja, a zsíros anyagok eltömíthetik a rendszert). Ezt követően a víz áramlását lelassítják és sugárirányú előülepítő medencékbe vezetik, ahol a lassú mozgás következtében a vízben még jelenlévő (a fizikai szűrés hatására leginkább szerves) lebegő szilárd anyagok egy része leülepszik a medence fenekére, egy része pedig a víztest felszínén lebeg a felhajtóerő következtében. Az előülepítő medencéknek köszönhetően a rendszer további elemein átfolyó szennyvíz BOI értéke csökken, mivel a lebegő szerves anyagok egy része kiülepszik (Barótfi 2000).

A vízvonal tovább haladásával megkezdődik a *másodfokú*, azaz biológiai tisztítás, melynek lényege, hogy a fizikai tisztítás után megmaradt lebegő, oldott és a kolloid formában jelenlévő szerves szennyeződések (dissolved organic carbon - DOC) lebontásra kerüljenek. Alapja a szennyvízben megtalálható szerves anyagokat lebontani képes mikroorganizmusok működése, melyhez megfelelő körülményeket biztosítanak a rendelkezésre álló technológiai elemek segítségével. Hazánkban az eleveniszapos biológiai tisztítás során a levegőztető medencébe beáramló szennyvíz szervesanyag-tartalmának lebontását baktériumok végzik keverés és áramoltatás mellett. A lebontási folyamat végbemeneteléhez oxigénre van szükség, mely levegőztető berendezések segítségével jut be a medencékbe. Azon felül, hogy a levegőztetéssel oxigén jut be a mikroorganizmusok lebontási folyamatainak segítésére, egyenletesen elosztatva, lebegésben tartja a medencében közreműködő sejtömeget, ezzel segítve, hogy a szerves szennyezőkhöz mint tápanyaghoz, minél nagyobb felületen hozzáférhessenek a baktériumok. A levegőztetés abban is nagy szerepet játszik, hogy a lebontási folyamat eredményeként keletkező végtermékeket is egyenletesen diszpergálja. Az oxigén vízbe juttatására számtalan módszer létezik, pl. felületi levegőztetők alkalmazásával a folyadékcseppek szétszórásával buborékok létrehozása, turbinás levegőztetők forgómozgása mellett oxigén buborékok bevezetése, folyadéksugaras levegőztetésnél a medencében lévő szennyvizet kivezetik, majd nagy nyomással visszaengedik azt. A szerves szennyezőanyagok eltávolítása közben nagy mennyiségű biotömegt, azaz fülösiszap keletkezik, amit a technológiai sor végén recirkulálnak a rendszer elejére. A lakossági szennyvizet a szerves

anyagok mellett szerves anyagok is alkotják (N, P), melyek a nem megfelelő szennyvízkezelés következtében a befogadóba kerülve súlyos eutrofizációt (algavirágzást) okozhatnak. A fölösiszapban felhalmozódott ammónium biológiai oxidációja csak akkor megy végbe a folyamat során, ha a szerves szén koncentrációja már lecsökkent és ezek után még nagy a víz oldott oxigéntartalma. A nitrifikáló medencékben indul meg a szerves és szerves ammónia nitráttá való alakítása, ami anoxikus környezetben valósul meg, a denitrifikáló medencében pedig a nitrát nitritté alakítása történik, hasonlóan magas oxigéntartalmú vízben, mint a szerves szén bontásakor. A foszfor formák egy részét szintén lehetséges redukálni aerob körülmények között a biológiai tisztítás során, azonban gyakran nem elegendő ez a tisztítási eljárás a P határértéken belüli lecsökkentésére, ezért sok esetben kémiai kicsapással távolítják el a szerves szennyező anyagot (http1). A kezelt szennyvíz egy utóülepítő medencébe kerül, ahol egy utolsó ülepedési folyamat játszódik le, ahonnan a fölösiszap egy részét recirkulálják a levegőztető medencébe (Barótfi 2000).

Ezt követi a *harmadfokú*, azaz vegyszeres tisztítás, mely a kórokozó mikrobák megsemmisítését, fertőzőképességük ellehetetlenítését célozza meg. Elsősorban a klór és annak vegyületei a legelterjedtebbek a fertőtlenítés során, mivel a tisztított szennyvíz fertőtlenítésére alkalmas oxidatív szerek közül nagy mennyiségben a klórozott víz felhasználása a leggazdaságosabb (Barótfi 2000). Ritkán fordul elő, azonban léteznek olyan tisztítótelepek, ahol klór helyett UV-t vagy akár ózont alkalmaznak, azonban ezek az eljárások jóval költségesebbek, illetve kevésbé hatékonyak.

2.4. A tisztított szennyvízre vonatkozó jogszabályi határértékek

A 28/2004. (XII. 25.) hatályos KvVM rendelet előírja, hogy a megtisztított települési szennyvizek milyen szabályok szerint vezethetők be felszíni befogadóba, valamint határértékeket ír elő a tisztított szennyvíz esetében a különböző szennyező anyagokra vonatkozóan (lásd 2. táblázat). A jogszabály emellett a veszélyes és mérgező anyagok esetében megadja, hogy ezeket a 10/2000. (VI. 2.) KöM-EüM-FVM-KHVM együttes rendeletben megtalálható, a felszín alatti vizekre vonatkozó „B” szennyezettségi határértékek figyelembevételével milyen koncentrációban lehet szennyvíz által közcsatornába, vagy befogadóba bocsájtani (28/2004 KvVM rend.).

A jogszabályi előírások alapján számos paraméterre, mely ismert hatással bír a tisztított szennyvizet befogadó felszíni víz minőségére és ökoszisztémájára jelenleg nincs előírás Magyarországon. Ezeket a paramétereket fizikai, kémiai és biológiai típusú szennyezőanyagokra oszthatjuk fel.

2. Táblázat: A tisztított szennyvízre vonatkozó követelmények a befogadóba történő bevezetés előtti helyen

Kiépített terhelési kapacitás (LEÉ)	Szennyező anyagok határértékei koncentrációban megadva (mg/l)					
	KOI	BOI ₅	Összes lebegőanyag	Összes foszfor*	Összes nitrogén*	
					V. 1-ől XI. 15-ig	XI. 16-tól IV. 30-ig
<600	300	80	100	- (4)	- (4)	- (4)
601-2000	200	50	75	- (4)	- (4)	- (4)
2001-10000	125	25	35	- (4)	- (4)	- (4)
10001-100000	125	25	35	2 ⁽⁵⁾	15 ⁽⁵⁾	25 ⁽⁵⁾
>100000	125	25	35	1 ⁽⁵⁾	10 ⁽⁵⁾	20 ⁽⁵⁾

*Helyesbítette: Magyar Közlöny 2005/12.

A továbbiakban a munkám szempontjából legjelentősebb fizikai (mikroműanyag), kémiai (antibiotikum és egyéb gyógyszermaradványok) és biológiai (patogén, antibiotikum rezisztens mikroszervezetek) szennyezőket mutatom be, melyekre jelenleg nem vonatkozik jogszabályi előírás sem a szennyvíztisztítás folyamatában, sem a tisztított szennyvízre vonatkozóan.

2.5. Mikroműanyagok

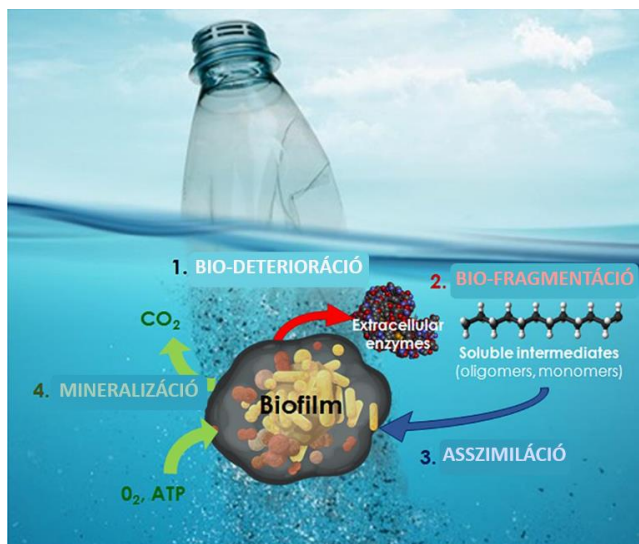
A műanyagok széleskörű felhasználása, olcsó előállítása és tömeggyártása világszerte megkönnyítette az emberiség életét. Megjósolták, hogy hatalmas előnyökkel jár majd a műanyagok mindennapi használata, ami azóta be is bizonyosodott, azonban arra kevesen gondoltak, hogy milyen hátránya lehet ezen anyagok elterjedésének a környezet- és humánegészségügyre vonatkozóan (Yarsley & Couzens 1945). Míg 1950-ben az egész világon csupán 1,5 millió tonna műanyag hulladék termelődött, addig ez a szám 2018-ban elérte a 359 millió tonnát (http2). Az egyik legnagyobb áttörést a csomagolóiparban való megjelenése jelentette, ahol kiváltotta a papír-, és cellulóزالapú csomagolóanyagokat a jobb fizikai tulajdonságainak (tartósság, átlátszóság, vízállóság) köszönhetően. A csomagolóiparban leggyakrabban használt műanyagok a polietilének ((LD)PE, (HD)PE), a polipropilén (PP), polisztirol (PS), polivinil-klorid (PVC), polietilén-tereftalát (PET) és a nejlonok. A műanyagok olyan kis méretű perzisztens, nehezen bomló polimer szemcsékre, úgynevezett mikroműanyagokra képesek aprózódni, melyek szabadszemmel szinte nem is láthatóak, és akár évszázadokig változatlan kémiai formában fenn tudnak maradni (Albertsson et al. 1987). Mikroműanyagként definiáljuk azokat a szintetikus polimereket, melyek átmérője 5 mm-nél nem nagyobb, azonban alsó mérethatár nem vonatkozik rájuk. Megkülönböztetünk elsődleges és másodlagos mikroplasztikokat. Elsődleges mikroműanyagoknak nevezzük azokat a műanyagokat, amelyek átmérője már gyártásukból adódóan sem haladja meg az 5 mm-t. Ezek főként textilekben, gyógyszerekben és szépségápolási termékekben, például arc és testradírokban fordulnak elő. A háztartásokból kijutva ezek a szennyvíztisztító telepeken át

a tisztított szennyvízzel együtt a természetes vizekbe kerülnek. Másodlagos mikroműanyagok a nagyobb műanyag tárgyak kopása során, UV fény hatására történő aprózódással keletkeznek (Parrag 2021). Döntő többségük az ipari és lakossági hulladékkezelés és szennyvíztisztítás során kerül ki a környezetbe, ahonnan már akadály nélkül bejuthatnak magasabb rendű élőlények szervezetébe. Magyarországon felszíni vízi környezetben Bordós és munkatársai azonosítottak először mikroműanyag szennyezést, eredményeik alapján a vizsgált felszíni víz minták 92%-a, míg az üledékminták 69%-a tartalmazott mikroplasztikot (Bordós et al. 2019). A World Wildlife Foundation (WWF) egy 2019-ben megjelent cikke szerint hetente akár 5 gramm mennyiségű mikroműanyagot vihetünk be a szervezetünkbe csupán a táplálék- és ivóvízfogyasztás során (http3). Ahogyan a legújabb kutatások bebizonyították, akár már az emberi vérből is kimutathatók nanoműanyagok (Heather A. Leslie et al. 2022), egyelőre azonban arról nincs tudomásunk, hogy milyen hatást gyakorol ez az egészségünkre. Előzetes kutatások szerint a szennyvízben lévő mikroműanyagok 90-98%-a megtisztítható lenne különböző tisztítási fázisokon való átfolyás után, illetve fejlettebb technológia alkalmazása során, mint a vízsűrítő filterek, ózonizáció és az oldott levegős flotáló (DAF). A legfontosabb kutatások a kifolyó tisztított szennyvíz mikroműanyag koncentrációját vizsgálták, melynek eredményeként azt a következtetést vonták le, hogy a vizes környezetbe kikerülő mikroműanyagok forrásai a szennyvíztisztító telepekek. A mikroplasztikok szintén potenciális veszélyt jelentenek a szennyvíziszap mezőgazdasági felhasználásának és az infrastruktúra kiépítésének következtében. A tisztítási eljárás során keletkezett szennyvíziszap a betongyártás egyik kedvelt alapanyaga, emellett trágyaként való felhasználása is széleskörben elterjedt, így a vizes környezet mellett, a talajtani közegbe jutva is képes mikroműanyag szennyezést okozni (Reddy & Nair 2022).

A hagyományos műanyagok mikroorganizmusok által történő lebomlása jelenleg még optimalizált laboratóriumi körülmények között is igen alacsony, ezért szárazföldi és élővízi környezetben is évtizedekig, akár évszázadokig is eltarthat azok lebomlása (Krueger et al. 2015). A biodegradáció, azaz a műanyagok biológiai úton való lebontása a legtöbb esetben fizikai és/vagy kémiai degradációval együttesen valósul meg, amik meggyengítik a polimerek struktúráját, ezzel utat nyitva a biológiai bomlás számára (İpekoglu et al. 2007). A műanyagokban abiotikus (fizikai, kémiai) hatásra bekövetkező felületi és szerkezeti változásokat „öregedésnek” nevezzük, mely folyamat lejátszódása számos környezeti tényezőtől függ, mint a hőmérséklet, napfény (UV), kémiai anyagok. Ezek a folyamatok oxidációval vagy a polimerek szétszakításával segítik elő a biodegradációt.

A műanyagok biodegradációját négy lényeges lépésben foglalhatjuk össze (lásd 1. ábra) (Dussud & Ghiglione 2014):

1. A bio-deterioráció összefügg a műanyag felületén, illetve belsejében növekedő, több baktérium fajból álló biofilmréteggel, ami az adott anyag pórusnövekedését idézi elő, anyagbéli töréseket okoz, mellyel gyengíti az adott anyag fizikai integritását (fizikai deterioráció). A mikroszervezetek által kibocsájtott savas jellegű vegyületek módosítják a



1. ábra: műanyagok biodegradációja biofilm hatására (Jacquin et al. 2019 nyomán)

- meggyengült anyag pórusaiba jutva a pH-t, melynek hatására megváltozik az adott mátrix anyag mikroszerkezete (kémiai deterioráció).
2. A bio-fragmentáció során a műanyag felületét kolonizáló baktériumok extracelluláris enzimeket bocsátanak ki magukból, amik lebontó folyamataik miatt csökkentik a polimerek molekuláris tömegét, melynek következtében oligomerek (korlátozott számú monomer egységből felépülő molekulák) és monomerek (egyéni molekulaegységek) szabadulnak fel, melyeket a baktériumsejtek asszimilálni képesek.
3. Az asszimiláció során a 600 daltonnál kisebb tömegű oligomerek bejutnak a sejtek belsejébe, ahol a baktériumok szénforrásként hasznosítják az oligomer egységeket. Ennek hatására növekedésnek indul a mikrobiális biomassza.
4. A mineralizáció a műanyag polimerek biodegradációjának végső lépése, ahol megtörténik a teljes mértékben oxidálódott metabolitok (CO₂, N₂, CH₄, és H₂O) kiválasztása.

Napjainkig a legtöbb kutatás főként csak a mikroműanyagok környezetben való megjelenésével, azok strukturális szerkezetével foglalkozott, azonban kevesebb figyelmet kapott az a tény, hogy a különböző vegyszerek és gyógyszermaradványok kitapadhatnak a műanyag részecskéken, a környezeti, vagy szennyvíz eredetű mikroorganizmusok pedig biofilmet alkotva képesek kolonizálni felületüket. A mikroműanyagot kolonizáló biofilm befolyásolhatja annak attitűdjét és potenciális veszélyeit a humán- és környezetegészségügyre

nézve. A továbbiakban ezért a fontosabb gyógyszermaradványok és a biofilm témakörök bemutatására térek át.

2.6. Gyógyszermaradványok, antibiotikumok

Gyógyszermaradványok kerülhetnek a szennyvízbe lakossági használatból, a kórházakból és a gyógyszeriparból, továbbá a mezőgazdaság állattartási ágazatából. Legelőször az 1970-es években jelentek meg publikációk arról, hogy a vízi környezetben kimutathatók gyógyszermolekulák (Tabak et al. 1970). Főként kezelt szennyvízmintákból mutattak ki elsőként szteroid hormonokat az USA, India és Németország területén (Norpoth et al. 1973). Gyógyszermolekulák leggyakrabban a tisztított kommunális szennyvizeken keresztül juthatnak be a felszíni víztestekbe (Kotchen et al. 2009). A lakosság által használt orvosságok egy része különböző metabolikus átalakulás után ürül ki a szervezetből, míg egy másik része bomlás nélkül, eredeti formájában kerül a szennyvízbe. Emellett a lejárt és a már nem használatos gyógyszereket a lakosság sok esetben a csatornahálózaton keresztül leöblítve juttatja a szennyvízbe, valamint elavult technológiájú gyógyszergyárak, illetve állattartó telepek is lehetnek a kikerült gyógyszermaradványok forrásai (http4). A jelenlegi szennyvíztisztítási eljárások nem alkalmasak arra, hogy maradéktalanul eltávolítsák a gyógyszermolekulákat, így ezek kikerülnek a felszíni vizekbe, mint befogadóba a kezelt szennyvízzel együtt (Heberer et al. 2002). A befogadóba kijutott gyógyszerhatóanyagok környezeti hatására befolyással van a gyógyszer perzisztenciája, biológiai hatása, vízdékonysága, polaritása (Farré et al. 2008), illetve a felszíni víztest pH-ja, mélysége, zavarossága, az évszakonként változó napsütéses órák száma (Kümmerer 2001). Attól függetlenül, hogy a felszíni víztestbe kerülve jelentős hígulás történik, melynek következtében a gyógyszermaradványok kis koncentrációban vannak jelen a befogadóban, továbbá a természetes vízben lebegő kolloid részecskéken, oldott szerves anyagokon, illetve az üledéken is könnyen megkötődnek, továbbra sem szűnik meg ezek esetleges biológiai aktivitása, toxicitása, hiszen egy részük változatlan formában van jelen a vízben (Osenbrück et al. 2007). Az élővizeinkbe kerülő gyógyszerészarmazékok, hormonok egyed szinten hatással lehetnek a vízben élő szervezetekre, rendszer szinten pedig a táplálékláncokra. A szennyvíztisztítási technológián elsősorban az erősen poláris tulajdonságú gyógyszermolekulák jutnak át és később akár a parti szűrészű kutakból nyert ivóvízből is kimutathatók (Heberer 2002). A tisztított szennyvízből kimutatható gyógyszer- és hormonmaradványokra egyelőre nem létezik határérték, mert a jelenlegi tudományos

bizonyítékokat alapul véve közegészségügyi kockázat szempontjából még nem alakult ki egyetértés egy elfogadható mennyiségre vonatkozóan (Gerencsérné et al. 2015).

Környezetvédelmi szempontból a legjelentősebb gyógyszercsoportok a gyulladáscsökkentők, láz- és fájdalomcsillapítók, a kardiovaszkuláris készítmények, az antidepresszánsok, antiepileptikumok, a vérsírszint szabályozók, a kontraszt anyagok, a kemoterápiás készítmények (citosztatikumok) és az antibiotikumok. Közülük is a gyulladáscsökkentők Magyarországon a humán- és állatgyógyászat terén az egyik legnagyobb mennyiségben alkalmazott gyógyszercsoportként vannak számontartva, mivel a fejfájástól kezdve a komoly, tartós betegségekből adódó fájdalom és gyulladás csökkentésére is jellemzően ugyanazokat a készítményeket használjuk (Mándi 2014). A továbbiakban a témám szempontjából jelentős gyógyszercsoport, az antibiotikumok részletes bemutatására térek rá.

Az antibiotikum olyan természetesen, félszintetikusan vagy szintetikusan előállított anyag, amely emberi és állati szervezetbe jutott mikroorganizmusok létezésének szempontjából fontos élettani folyamatokat gátol, valamint azok szaporodását akadályozza. Napjainkban a fertőző betegségek kezelésének hatásos módszere az antibiotikumok alkalmazása, az orvoslásban széles köre áll rendelkezésre az antimikrobiális szereknek. Az antibiotikumok működésének lényege, hogy specifikus hatást fejtenek ki a mikroszervezetekre, azaz az emberi szervezetben egyáltalán nem, vagy alig okoznak toxicitást. Olyan folyamatokat gátolnak a baktériumsejtben vagy olyan célmolekulákat támadnak meg, amelyek csak az adott mikroorganizmusra jellemzők. Megkülönböztetünk baktériumokat ölő, vagyis baktericid hatású és a baktériumok növekedését és szaporodását gátló, más szóval bakteriosztatikus antimikrobiális szereket (Walsh 2003). Az antimikrobiális szerek specifikusságát mutatja az is, hogy a többféle baktériumra ható, széles spektrumú szerek (pl. *Penicillin*) mellett ismerünk szűk spektrumúakat (pl. *Flucloxacillin*), amik csak bizonyos baktériumcsoportok elpusztítására alkalmasak (Majorovics 2018). Attól függően, hogy a sejtre milyen hatást gyakorolnak, ismerünk sejtfal felépítését gátló készítményeket, fehérjeszintézist gátló, örökítőanyag kialakulását gátló, nukleinsavsintézist akadályozó, folsavsintézist gátló szereket. Antibiotikum adható már fennálló fertőzés terápiás kezelésére, ugyanakkor, kizárólag indokolt esetben profilaktikusan, avagy megelőzés céljából is felhasználják (Füst 2004).

A helytelenül alkalmazott antimikrobiális szerek jelentős humán-, és környezetegészségügyi kockázatot jelentenek. Sok esetben indokolatlanul alkalmaznak antibiotikumos gyógyszereket vírusos megbetegedések kezelésére, pedig ilyen esetekben ezek

a szerek nem hatásosak. Problémát idézhet elő, ha a gyógyszeres terápia időtartamát lerövidítik vagy nem tartják be az előírt adagolást, ekkor nem lesz jelen a szervezetben hatásos koncentrációjú gyógyszer, ami a baktériumok további szaporodását, esetleg rezisztencia kialakulását eredményezheti (http5). Komoly mellékhatásokat okozhat a nem hatásos, a szervezet számára szükségtelen antibiotikum használat, emellett óriási szerepe van az antibiotikum rezisztens baktériumok kialakulásában, ami a jövőben veszélybe sodorja az antibiotikumokkal való terápiás kezelések hatékonyságát. Az alábbiakban felsorolásra kerülnek a jelenleg antimikrobiális hatásukról ismert, terápiára alkalmas kezelési módok hatóanyaguk és felhasználásuk alapján (Bérdy 2013):

1. Baktérium-, gomba- és rákellenes antibiotikumok:

β -laktámok (pl. Penicillinek és Carbapenemek), Aminoglikozidok (Gentamicin), Makrolidok (Tilosin), Antraciklinek, Tetraciklinek, Anzamicinek, Peptidek, Gliko- és Ciklopeptidek, egyéb antibiotikumok

2. Más humánterápiás célokra használt készítmények:

Immunszuppresszív anyagok (immunrendszer gátló anyagok), koleszterinszint-csökkentők, lipázinhibitor (enzimgátló szer), antidiabetikum (vércukorszint stabilizáló)

3. Mezőgazdaságban és állattenyésztésben használt antimikrobiális hatású készítmények:

Növényvédő szerek (bioherbicidek, biopeszticidek), állatgyógyászati szerek (antiparaziták), takarmánykiegészítők (profilaktikus szerek)

A lakossági megbetegedések kezelésére alkalmazott antibiotikumok a többi gyógyszermaradványhoz hasonlóan természetes kiválasztás útján, a lejárt szavatosságú, csatornába engedett készítményekkel együtt a szennyvíztisztító telepeken keresztül a felszíni, és ivóvizekbe kerülhetnek, így hozzájárulnak a befogadó gyógyszerterheléséhez. Emellett jelentős forrás a mezőgazdasági (növényvédelemi, állatgyógyászati, hozamnövelő takarmányozási célokra szánt) antibiotikum használat: egy 1999-es felmérés szerint a világon az összes alkalmazott antibiotikumok 15%-a az állattenyésztésben, míg 33%-a az állatgyógyászatban került felhasználásra (Opinion of the Scientific Committee 1999). 2006. január 1-től azonban az Európai Unió betiltotta az antibiotikumokat tartalmazó takarmányok hozamfokozó célú felhasználását (http6). 2022-ben újabb szigorításokat vezetett be az Unió, ugyanis korlátozták a gyógyszeres takarmányok profilaktikus felhasználását is (Az EU 2019/4 rendelete 2018), melytől az antibiotikumok környezeti koncentrációjának, illetve az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek arányának csökkenését várják.

A magyarországi antibiotikum használati adatokról kevés információval rendelkezünk, de tájékozódhatunk például a kórházak felhasználási adataiból, valamint környezeti monitoring eredményekből is. Az alábbi ábrán látjuk azokat a hazai kórházban alkalmazott antibiotikumokat, amiket a leggyakrabban használnak fertőzőes megbetegedések kezelésére: ezek alapján 2015—ben az amoxicillin és klavulánsav kombinációját használták a legnagyobb mennyiségben (2. ábra). Dőlt betűvel vannak jelölve azok az antimikrobiális szerek, amik mindkét vizsgált évben felkerültek a listára (Benkő et al., 2016):

1996			2015		
	DDD/ 100 ápolási nap	%		DDD/ 100 ápolási nap	%
<i>Doxycyclin</i>	3,8	16	<i>AMC</i>	6,3	27,4
<i>AMC</i>	2,8	12	Ceftriaxon	2,6	11,2
<i>Ampicillin</i>	2,3	9,7	<i>Ciprofloxacin</i>	2,2	9,3
<i>Cefuroxim</i>	2,1	8,5	<i>Cefuroxim</i>	2,0	8,7
<i>SMX/TMP</i>	1,9	7,8	Levofloxacin	1,3	5,6
<i>Ciprofloxacin</i>	1,0	4,0	Clarithromycin	1,2	5,4
Penamecillin	0,9	3,9	Clindamycin	0,8	3,3
Ofloxacin	0,7	3,0	Metronidazol	0,7	3,0
Cefaclor	0,7	2,8	<i>SMX/TMP</i>	0,7	2,8
Roxithromycin	0,6	2,5	<i>Doxycyclin</i>	0,6	2,8

AMC = amoxicillin és klavulánsav; SMX/TMP = szulfametoxazol és trimetoprim.

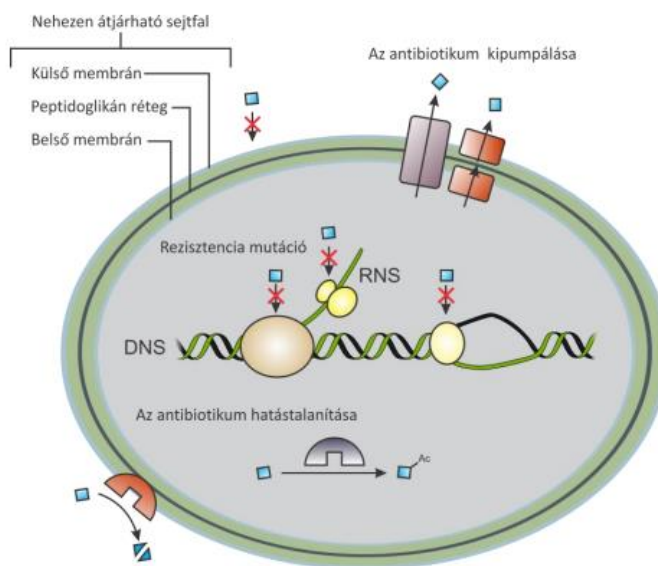
2. ábra: A legfontosabb antibiotikumok használati adatai a magyarországi kórházakban (Benkő et al., 2016)

DDD – Defined daily dose, (napi terápiás dózis)

2.7. Antibiotikum használat és antibiotikum rezisztencia

Az antibiotikumok speciális kockázati profillal rendelkező gyógyszerek, mivel használatuk a célszervezetek (elsősorban baktériumok) körében rezisztenciához, azaz ellenállóképesség kialakulásához vezethet (Wright 2010). Antibiotikum érzékenységről beszélünk, amennyiben egy mikroszervezet egy adott antimikrobiális szer hatásával szemben nem mutat ellenállóképességet, továbbá, ha nem rendelkezik sem horizontális géntranszfer útján szerzett, sem kromoszómális mutáción alapuló rezisztencia mechanizmussal

(Martinez 2014). Ezzel szemben antibiotikum rezisztenciának nevezzük a természetes, vagy szerzett ellenállóképességet az adott antibiotikum hatásával szemben. Egy mikroorganizmus



3. ábra: Az antibiotikum rezisztencia kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok Gram-negatív baktérium esetében (Allen 2010)

természetes jellegéből adódóan, szervezeti felépítése és funkcionális tulajdonságai révén is rendelkezhet az adott antibiotikummal szembeni rezisztencia génnel. Szerzett antibiotikum rezisztencia esetében a baktériumok képesek a mobilis genetikai elemeken kódolt rezisztencia géneket egymás között horizontális géntranszfer útján, nem csak faj-, hanem nemzetség szinten is átadni (Losonczy 2001). Antibiotikum terápia alkalmazása során, a mikroszervezetek genetikai állományában bekövetkező mutációk következtében szintén kialakulhat antibiotikum rezisztencia. Az antibiotikum rezisztenciának négy típusát ismerjük (lásd 3. ábra).

Az első típusa, amikor az antibiotikum egyáltalán nem képes megkötődni a mikroszervezet sejtmembránján vagy ha mégis, akkor képtelen azon átjutni. Más esetben képes az antibiotikum bejutni a baktérium belsejébe, azonban efflux pumpák segítségével képes kipumpálni azt a sejten kívüli térbe. Harmadik típusa, amikor az antimikrobiális szer bejut a baktériumba, azonban a célhelyen bekövetkező változás következtében nem tudja kifejteni hatását. Negyedik változata, amikor a baktériumsejt antibiotikum specifikus enzimeket termelve lebontja azt, mielőtt még hatását kifejthetné a mikroszervezetben (Fernández & Hancock 2012).

A többszörösen rezisztens (multirezisztens, pánrezisztens) baktériumok folyamatosan növekvő ellenállóképessége az antibiotikumokkal szemben jelentős egészségügyi problémákat okoz világszerte, miután az eddig hatásosnak bizonyuló antimikrobiális szerek (széles spektrumú *Penicillinek*, *Carbapenemek*, *Aminoglycozidok*, *Monobactámok* stb.) gyakran hatástalanok a patogén mikroorganizmusokkal szemben. A multirezisztens kórokozók leggyakrabban olyan fertőzőes megbetegedéseket okozó „szuperbaktériumok”, amelyekkel szemben egyidejűleg akár több antibiotikum hatóanyag csoport is hatását veszíti (Magiorakos et al. 2012), ennek következtében a fertőzések kezelése megnehezül vagy rosszabb esetben lehetetlenné válik. A multirezisztens baktériumok a legtöbb esetben kórházban kezelt vagy bentlakásos intézményekben ápolt emberekre jelentenek veszélyt, ennek ellenére egészséges felnőttekben és gyermekekben is okozhatnak fertőzést ([http7](http://7)).

Mindez arra ösztönözte az orvostudományt, hogy fontolóra vegye a régen alkalmazott, azonban az emberi szervezet számára toxikusnak vélt hatóanyagokat, mint például a Polymyxineket (*Polymyxin E* (colistin) és *Polymyxin B*). A colistint az 1990-es évek közepén vették újra használatba a multirezisztens mikroszervezetek legyőzése érdekében, azonban a szerrel szemben fennálló átadható rezisztencia ezt követően gyorsan kialakult. Ennek ellenére még ma is gyakran hatásos szerként használják kórházi körülmények között, mint végső

terápiás lehetőséget, ún. „last resort” antibiotikumot. A colistin több módon is képes hatni a kórokozó mikroszervezetekre, azonban a Gram-negatív baktériumok esetében legtöbbször a külső és belső membrán integritásának megszüntetésével jut be a mikroszervezetbe és ott fejti ki antibakteriális hatását (El-Sayed Ahmed 2020). Munkám szempontjából a másik fontos antibiotikum a β -laktámok csoportjába tartozó, széles spektrumú, enzimspecifikus, baktericid jellegű Carbapenem család. Hatásmechanizmusuk, hogy a sejtfalon áthatolva az egyes β -laktamázt termelő baktériumokban megtalálható enzimhez, az úgynevezett penicillin kötő fehérjéhez kapcsolódnak, majd annak antibiotikum gátló hatását inaktíválják, ami a mikroorganizmusokra nézve letális végkimenetelű (Mouton 2000; Zhanel 2007). A Carbapenem csoport legfontosabb tagjai az imipenem, a meropenem és a doripenem hatóanyagok. A carbapenem és colistin rezisztencia gyakran mobilis genetika elemeken kódolt, átadható rezisztencia mechanizmus, mely a rezisztens törzsek és rezisztencia gének környezetbe kerülésével a természetes mikrobaközösség körében is teret nyerhet. Ilyen átadható rezisztencia gének a colistin esetében az *mcr* gének (Hussein et al., 2021), a carbapenemek esetében pedig a szerzett carbapenemáz gének (pl. VIM, IMP, OXA-48) (Pitout et al. 2019). A colistin és carbapenem rezisztencia főleg a Gram-negatív patogén (betegség kiváltására képes) mikroszervezetek között bír klinikai jelentőséggel, mint a *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* és az *Acinetobacter baumannii*. Az említett mikroszervezetek környezetegészségügyi jelentőségét az adja, hogy mivel opportunistá patogén szervezetek, ezért szaprotróf életciklusukból eredően képesek tartósan megtelepedni és terjedni a környezetben. E mikroszervezetek közül a *P. aeruginosa* vizsgálatára a későbbiekben bemutatott kísérletem is irányult, így a továbbiakban részletesebben is bemutatom a fajt.

2.8. *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas* nemzetségbe tartozó *Pseudomonas aeruginosa* (a továbbiakban: *P. aeruginosa*) az aerob, Gram-negatív baktériumok közé sorolandó, mely a kórházi környezeten kívül a természeti környezet elemeinek szinte mindegyikében kimutatható. Egyre nagyobb figyelem szegeződik a fajra, mióta kutatások bebizonyították, hogy kórházi környezetben ez az egyik legjelentősebb humán megbetegedéseket okozó opportunistá patogén (Losonczy 2001), azaz a legyengült immunrendszerű szervezetbe bekerülve súlyos, sok esetben gyógyíthatatlan megbetegedést okoz, az antibiotikumokra való alacsony érzékenysége következtében. Képes multirezisztencia kialakítására, vagyis egyidejűleg kettő vagy több antibiotikumcsoport hatóanyagával szemben is ellenállóságot mutathat, ami számos esetben

hátráltatja a fertőzőes megbetegedések hatékony antibiotikus kezelését (Barcs 2001). Emellett a *P. aeruginosa* ismert biofilmképző, így potenciálisan szerepet játszhat biotikus és abiotikus felületek kolonizációjában. A továbbiakban a mikroműanyagok mikrobiális kolonizációja szempontjából lényeges biofilmképzés folyamatának ismertetésére térek ki.

2.9. Biofilm képződés

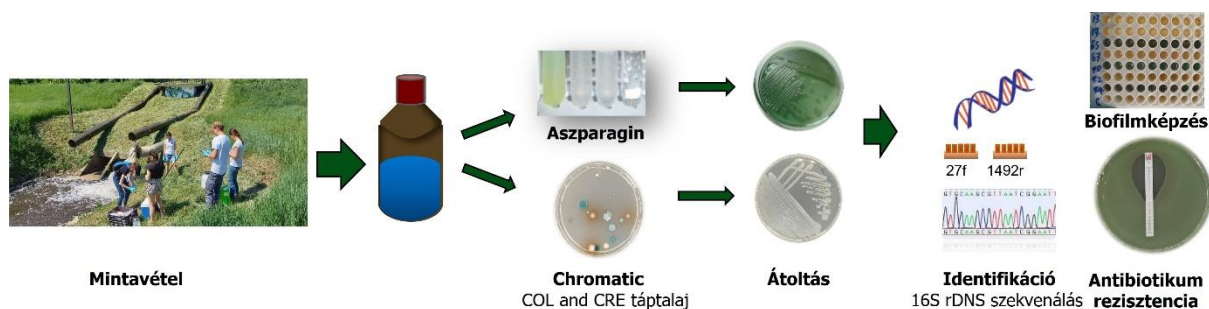
A baktériumok egyik hatékony védekezési mechanizmusa a külső kedvezőtlen hatásokkal szemben a poliszacharidok extracelluláris termelése következtében kialakuló „mátrix”, vagyis biofilm, mely segíti a mikroszervezetek felületi megtapadását. Ezek a zárt rendszerű, mikroszervezetekkel kitöltött aggregátumok képesek egymáshoz és különböző felületekhez kötődni, emellett strukturálisan és funkcionálisan is nagy stabilitás jellemzi őket. Az extracelluláris poliszacharidok termelése miatt a mikroba közösség egy tokba ágyazódik, ahol ellenállóvá válik a negatív környezeti hatásokkal szemben (Radó 2019). A biofilmet alkotó mikroszervezetek képesek egy organizmusként működni (Aminov 2011), azaz folyamatosan kölcsönhatásban állnak egymással az aggregátumon belül és kémiai jelanyagokkal képesek kommunikálni, továbbá a rezisztencia géneket átadni. A biofilmet alkotó mikroorganizmusok antibiotikumokkal szembeni ellenállóképessége akár százszorosa is lehet a planktonikus (lebegő) sejtekhez képest. A biofilm a mátrix viszkózus anyaga révén lassítja a sejtek anyagtranszportját, így az antibiotikumnak alig van esélye a struktúra belsejébe jutni. Ugyancsak a mátrix szerkezetének köszönhetően az antibiotikum megkötődhet a sejteket körülölelő anyagban, ahol lebontják a jelenlévő enzimek (McCarty et al. 2014). A biofilm képzése tehát hozzájárul a mikroszervezetek tartós fennmaradásához, növeli perzisztenciájuk és rezisztenciájuk hatékonyságát, így az antibiotikum rezisztencia egyik gócpontjának tekinthető. A környezetbe kerülő műanyag hulladék és a mikroműanyagok ideális abiotikus felületet jelentenek a mikrobiális biofilmek kialakulásához (He et al. 2022)

A szakirodalom áttekintése alapján megállapítható, hogy a mikroműanyagok, gyógyszermaradványok, antibiotikumok és antibiotikum rezisztencia gének egyidejűleg jelen lehetnek a tisztított szennyvízben és annak felszíni befogadóba vezetése révén eljuthatnak a természetes vízi ökoszisztémába is. Hazai viszonyok között kevés információval rendelkezünk erről a problémakorról, mely hiány pótlása érdekében végeztem el a következő fejezetben részletezett kutatómunkát.

3. Vizsgálati módszerek

Az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek azonosításához és a biofilm kialakítására képes törzsek kimutatásához szükséges vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézetében végeztem. 2021 őszén csatlakoztam a tanszéken folyó projektmunkába, ennek köszönhetően mire sor került a szakdolgozatom elkészítésére, elsajátíthattam a vizsgálatok végrehajtásához szükséges laboratóriumi módszereket. A projekt indításakor, 2022. áprilisában terveink között szerepelt a különböző anyagi minőségű mikroműanyagokkal (PP, PE, PET, PVC, HDPE, PS) megtöltött, ún. „plastic colonizer”-ek vizsgálata (Szabó et al. 2021), amiket a kísérlet elején a kiválasztott helyszínekre is telepítettünk, azonban az idei évben tapasztalt súlyos aszály következtében egyes plastic colonizerek szárazra kerültek, illetve volt, amit illetéktelenek eltávolítottak. Ezért a kísérletünk azon részét, miszerint mesterségesen kihelyezett mikroműanyagok felületét kolonizáló antibiotikum rezisztens baktériumokat izolálunk, egyelőre nem sikerült elvégeznünk, a kísérlet ismétlése jelenleg folyamatban van.

A tényleges vizsgálatok tehát 2022 május és 2022 július között elsősorban a szennyvízterhelés alatt álló felszíni víztestek mintavételére és vizsgálatára korlátozódtak a Zagyva mentén, a szennyvízbevezetés felett, a szennyvízbevezetés helyén és a szennyvízbevezetés alatt kijelölt mintavételi pontokban. A környezeti víz mintavételezése mellett, fizikai és kémiai paraméterek helyszíni vizsgálatát is elvégeztünk. A minták hűtve kerültek be a laboratóriumba és 24 órán belül megkezdődött azok feldolgozása. A helyszínen a felszíni víztest mikroműanyag koncentrációjának mérése is megtörtént, a későbbiekben pedig rezisztencia gének meghatározása és közösségi mikrobiológiai vizsgálatok érdekében a minták szűrésére is sor került, viszont ezek vizsgálati módszerére nem térek ki részletesen, mert ezek a vizsgálatok nem az én dolgozatom tárgyát képezik. A minták feldolgozása saját kutatásaim során két vizsgálat célját szolgálta. Mivel a fent említett okokból adódóan a biofilm leválasztása mikroműanyagok felületéről sikertelen volt, emiatt a vízmintáinkból célzottan egy olyan baktériumfaj azonosítására fektettem a hangsúlyt (*P. aeruginosa*), mely a szakirodalom alapján bizonyítottan biofilmképző (Colvin et al. 2011) és gyakran rendelkezik szerzett antibiotikum rezisztencia génekkel. Emellett szelektív tenyésztéses mikrobiológiai módszerekkel colistin (COL) és carbapenem (CRE) rezisztens mikroszervezetek azonosítását tűztem ki célul. Az általam elvégzett vizsgálatok főbb lépéseit foglalja össze a 4. ábra. A vizsgálati módszereket az alábbiakban részletesen ismertetem.



4. ábra: Vizsgálati módszerek (saját ábra)

3.1. Mintavételezés

A PIACI KFI projekten belül az országban összesen 5 helyszínen történt mintavétel (lásd 5. ábra). Az előzetes bejárás során felmért, szennyvízterhelés alatt álló területek közül 3 db mintavételi helyszín került kiválasztásra a Zagyva mentén (Jásztelek-Jászberény, Jászfényszaru, Hatvan) és 2 másik pedig az ország nyugati felében (Veszprém és Nagykanizsa). TDK dolgozatomban csak a Zagyva mintázására térek ki, mert a saját, önálló munkámat az ott begyűjtött minták alapján végeztem el. A mikrobaközösségek izolálásához



5. ábra: Mintavétel és helyszíni vizsgálatok elvégzése

szükséges mintavétel minden esetben a felszíni vizek mintavételezésére vonatkozó Magyar és Nemzetközi Szabványoknak megfelelően történt (MSZ 12750-2:1971. Felszíni vizek vizsgálata., MSZ EN ISO 5667-1:2007 Mintavétel felszíni vizekből.) A reprezentatív vízminta egy, a mintával előzőleg átmosott teleszkópos edénnyel, tölcser segítségével került megvételezésre, amit steril, literes mintavételi üvegekbe mertünk.

A területen helyszíni fizikokémiai vizsgálatokat végeztünk (pH, vezetőképesség, redox-potenciál, nitrát, nitrit, összkeménység, karbontát keménység, klórtartalom), illetve fizikai paramétereket is feljegyeztünk (levegő- és víz hőmérséklet, páratartalom, légnyomás stb.). A vízmintákat a szabványnak megfelelően, 4°C-os hőmérsékleten szállítottuk a laboratóriumba, ahol azokat további analitikai és mikrobiológiai vizsgálatoknak vetettük alá. A laboratóriumi analitikai vizsgálatokat a Eurofins Analytical Services Hungary Kft. (a korábbi WESSLING Hungary Kft.) végezte el.

3.2. Tenyésztési mikrobiológiai vizsgálatok

A *P. aeruginosa* kimutatása érdekében a tenyésztési vizsgálatok szelektív és differenciáló táptalajokon történtek. Elsőként a laboratóriumba beérkezett környezeti minta tízes alapú hígítási sorát készítettem el, melyet aszparagin (3g L-aszparagin; 1g K₂HPO₄; 0,5g MgSO₄ x 7H₂O; 10 cm³ glicerol; 1000 cm³ desztillált víz) dúsító tápoldatot tartalmazó kémcsőbe oltottam át a mikroszervezet szelektív felszaporításának érdekében. Ezt 48 órán át, megközelítőleg 42±2°C-on inkubáció követte. Ezt követően a baktériumszuszpenziót cetrimid agarra szélesztettem, amit 24 órán keresztül, 37°C-on inkubáltam. A *P. aeruginosa* cetrimid agaron képes fennmaradni, míg a legtöbb baktérium faj növekedésére a tápközeg gátló hatással van. Cetrimid agaron könnyen megkülönböztethető más fajokól a *P. aeruginosa* a telepei körül megjelenő sárgás, zöldes, idővel barnás pigmentációnak köszönhetően, mely vízőldékony pigmentek (pyocyanin, pyoverdin) termelésének köszönhető. A kékesre, zöldesre elszíneződött telepek kémcsőben lévő acetamid oldatba (1g acetamid; 5g NaCl; 2g KH₂PO₄; 0,1g MgSO₄ x 7H₂O; 1000 cm³ desztillált víz) kerültek átoltásra, ami szintén 24 óra alatt 37°C-on inkubálódott. Az inkubáció végén Nessler-reagenst (7g KI; 10g HgI₂; 10g KOH; 100 cm³ desztillált víz) csepegtettem az oldathoz, ami az acetamid vízbontása során keletkező ammónia hatására barna elszíneződés formájában jelzi számunkra a *P. aeruginosa* jelenlétét. A továbbiakban kétszer is megismételt TGE agarra való tisztítószélesztés után a további felhasználásig a folyadékkultúrában felvett törzseket 30 v/v%-os glicerol oldattal elegyítve, -80°C-on, fagyaszttva tároltam.

A kísérletem másik vonala az antibiotikum (colistin, carbapenem) rezisztens baktériumtörzsek izolálása volt ugyanabból a környezeti mintából. Colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek azonosítására alkalmas, szelektív és differenciáló Chromatic™ táptalajra (Liofilchem®) 100 µL mennyiségű hígítatlan vízmintát steril üvegbot segítségével három irányba szélesztettem. A táptalajok összetétele:

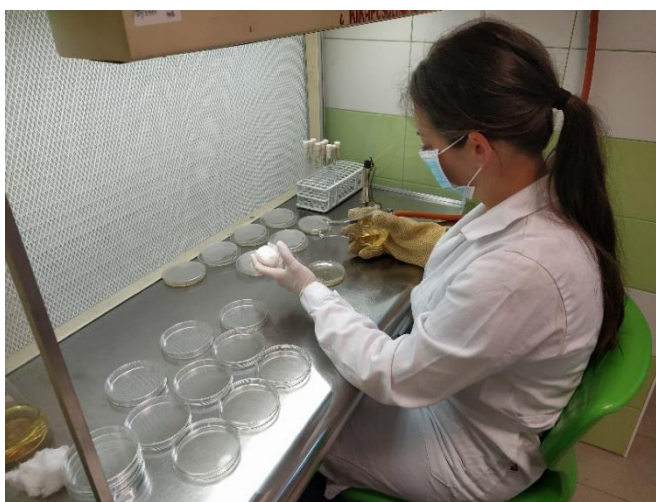
Chromatic COL: 14g Húspepton, 6g Kazeinpepton, 3g élesztőkivonat, 5g nátrium-klorid, 14g kromogén és szelektív mix, 15 agar, (1000 ml)

Chromatic CRE: 30 g pepton, 11g szelektív mix, 1 chromogén mix, 15g agar (1000 ml)

Ezt követően a lemezeket 96 órán keresztül 35°C-on inkubáltam. A Chromatic táptalajnak köszönhetően az inkubáció végén az egyes baktériumnemzetségeket telep morfológia és telepszín alapján nagy biztonsággal el lehet különíteni, illetve a vizsgálati módszer telepszám (CFU, colony forming units) meghatározást is lehetővé tesz. Minden Chromatic táptalajról származó colistin, vagy carbapenem rezisztens izolátum a *P. aeruginosa* törzsekhez hasonlóan tisztító szélesztésen esett át (lásd 6. ábra).

3.3. Faj szintű identifikáció

A tisztító szélesztéseken átesett baktériumtörzsek faj szintű identifikációjának első lépése a DNS izolálás, melynek célja, hogy megfelelő mennyiségű és tisztaságú, sokszorosítható DNS-t nyerjünk ki a mintáinkból. A kitisztított törzseket TGE-5 folyékony táptalajra kitenyésztettem és a DNS izolálás előtt legfeljebb 24 órán át inkubálódtak. A DNS izolálást a DNeasy® UltraClean® Microbial Kit (QIAGEN Group) gyártói ajánlása szerint végeztem el.



6. ábra: Lemezöntés, 2022 (saját felvétel)

A *P. aeruginosa* és a COL/CRE rezisztens tisztatenyészetek faj szintű azonosítása is a 16S rDNS szekvenálás módszerével történt. Az izolált DNS-ből polimeráz láncreakció (PCR) során a DNS előre meghatározott célszakaszából, azaz a „target szekvenciából” (fajspecifikus 16S rDNS) nagy mennyiségű másolatot készítünk. Ehhez forward és reverz primerek-re van szükségünk, amik kijelölik a sokszorosítani kívánt célszakaszuk elejét és végét; DNS-polimeráz enzimre, ami elvégzi az amplifikálandó szakasz másolását; nukleotidokra, melyből felépíti az enzim az új DNS szálakat; puffer, ami biztosítja a DNS-polimeráz enzim megfelelő működéséhez szükséges kémiai környezetet. A PCR reakció három fő lépése közül első a *denaturáció*, mely során magas hőmérséklet hatására a DNS kettős szálai kettéválnak a hidrogénhíd-kötések felbomlása következtében, így létrejön az egyszálú templát, amit a

reakció további lépéseiben alkalmazunk. Az *anelláció* során csökken a hőmérséklet, ami segíti az adott primerek DNS szálakhoz való tapadását. Ezt az elongáció követi, mely során a DNS-polimeráz enzim a szabad nukleotidok felhasználásával sokszorososan felépíti a DNS target szekvenciát. Egy 50 µl végtér fogatú reakcióelegyre számolva az alábbi PCR mastermixet alkalmaztam (Radó, 2019):

- 1 µl DNS templát: tartalmazza a DNS-szakasz amplifikálandó szegmensét
- 0,5 µl 27f forward és 0,5 µl 1492r reverz primer: meghatározzák a sokszorosítandó szakasz elejét és végét
- 0,25 µl (Dream Taq) DNS-polimeráz: lemásolja az amplifikálandó szakaszt
- 5 µl Taq puffer: megfelelő kémiai környezetet biztosít a DNS polimeráz működéséhez
- 10 µl dNTP (dezoxiribonukleinsav-trifoszfátok (A, G, T, C)): Az új DNS szálak építőegységei
- 32,75 µl MQ (azaz, nukláz-mentes) víz: beállítja a végtér fogatot

A polimeráz láncreakció automata Eppendorf Mastercycler® készülékben játszódott le, melynek hőprofilját alább ismertetem: 95°C, 3 min 32x (94°C, 30 sec, 52°C 30 sec, 72°C 1 min), 72°C 10 min, 4°C ∞). Az eredményt agaróz gélelektroforézissel ellenőriztem. A folyamat során 70 ml SB pufferben (0,4 g NaOH; 3,044 H₃BO₄; 1000 cm³ desztillált víz) mikrohullámú sütő segítségével feloldottam 0,7 g tiszta agarózt, majd visszahűtést követően 3,5 µl EcoSafe (Pacific Image Electronics, Kanada) festéket adtam az oldathoz. A gél fésűsorokat tartalmazó futtatókádban szilárdult meg, amik helyén az eltávolításukat követően zsebek alakulnak ki. A zsebekbe 5 µl PCR terméket pipettáztam és minden mintasor első zsebébe 3 µl GeneRuler™ DNA Ladder Mix-et (1 mennyiség GeneRuler; 1 mennyiség Loading Dye, 4 mennyiség MQ víz), azaz DNS markert töltöttem be, amely a PCR termék hozzávetőleges méretének ellenőrzésére ad lehetőséget. A DNS molekula foszfátcsoportjai miatt 7-es pH értéken negatív töltéssel bír, ezért a DNS a pozitív pólus felé indul el egyenáram hatására. Az előzetesen a gélhez mért EcoSafe festék beépül a DNS-szálba és UV fény hatására fluoreszkál, így a DNS egyszerűen kimutatható a gélben. A mintáimat 40 percen keresztül, 100 V feszültségen futtattam, ezt követően pedig UV fény alatt megvizsgáltam a termék jelenlétét.

Az agaróz gélelektroforézis eredményeként kapott megfelelő méretű és tisztaságú PCR termékek 16S rDNS amplifikált szakaszának bázisrendjének meghatározásához elvégeztem a PCR termék tisztítását NucleoSpin PCR Clean-up kit (Macherey-Nagel) segítségével, a

gyártó előírásainak megfelelően. Az így kapott tisztított PCR termékeket újra gélelektroforézis vizsgálat alá vettem és a pozitív eredményeket később a szekvenáló reakció alapjául DNS templátként használtam fel. A DNS szekvencia nukleotid sorrendjét szekvenáló PCR reakció elvégzését követően lehet megállapítani. Az úgynevezett dideoxi (Sanger-féle) láncterminációs szekvenálás során a hagyományos PCR reakció zajlik le a megszokott reakció alkotókkal, azonban a négyféle dezoxiribonukleinsav-trifoszfát (dNTP) mellett négyféle módosított, fluorofórral (fluoreszcens festékkel) megjelölt didezoxinukleotid-trifoszfát (ddNTP) is bekerül a reakcióközegbe. A DNS polimerizáció alkalmával az új szálba a nukleotidok koncentrációjának arányától függően a komplementer dNTP vagy ddNTP épülhet be. Amikor dNTP illeszkedik a szálba, akkor a szintézis folytatódik, ugyanis a dNTP 3' végén nukleotid beépülést segítő -H csoport található. Amikor a módosított dNTP foglal helyet a felépítés során, akkor a ddNTP 3' végén lévő -OH csoport miatt kapcsolódási pont hiányában a lánc szintézise nem folytatódik tovább. A DNS templát eltérő hosszúságú fragmentjei alakulnak ki, melyek végén minden esetben fluoreszkáló bázisok foglalnak helyet. Egy 10 µl végtérfogatú szekvenáló reakcióelegyre számolva az alábbi összetételt alkalmaztam: 1 µl Big Dye; 1,5 µl Big Dye puffer; 0,5 µl forward primer (88f, 338f vagy 803f); 4 µl tisztított PCR termék; 3 µl MQ-víz. A reakció hőprofilja a következőképp alakult: 96°C 1 min 28x(96°C 10 sec, 51°C 5 sec, 60°C 4 min) 4°C ∞.

A 16S rDNS gén hozzávetőleg 1550 bázispárral rendelkezik, melynek 600-700 bázispár hosszúságú lefedése esetén már nagy valószínűséggel faj szinten azonosítható az adott baktériumtörzs. A folyamat során a szekvenáló PCR terméket ún. etanol precipitáció módszerével csapjuk ki. Ennek során a mintát elegyítjük acetát mixszel (1,5 µl 2M-os nátrium-acetát; 7,25 µl MQ-víz; 31,25 µl 95%-os EtOH) majd 10 percen át inkubáltam szobahőmérsékleten. A keveréket 4600 rpm fordulatszámon, 4°C-on, 30 percen keresztül centrifugáltam, majd a felülúszó fázist eltávolítottam a mintákról. Ezután 180 µl 70%-os etil-alkoholt mértem a mintákra és ismét 4600 rpm fordulatszámon, 4°C-on, 20 percig centrifugáltam. Ezt követően a felülúszó fázist újból dekantáltam, majd 20 µl Hi-Di formamidot pipettáztam a kicsapatott DNS-re a fluoreszcensen jelölt termék felvétele érdekében. Az így előkészített mintákat 1 napig 4°C-on inkubáltam, majd a bázissorrend megállapítása ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) készüléken történt. A nyers szekvenciákat MEGA (v: 7.0.26) szoftver segítségével manuálisan szerkesztettem, majd a faj szintű meghatározást az EzBioCloud (Yoon et al. 2017) adatbázissal való összevetés alapján hajtottam végre ([http8](http://8)).

3.4. Antibiotikum rezisztencia vizsgálatok

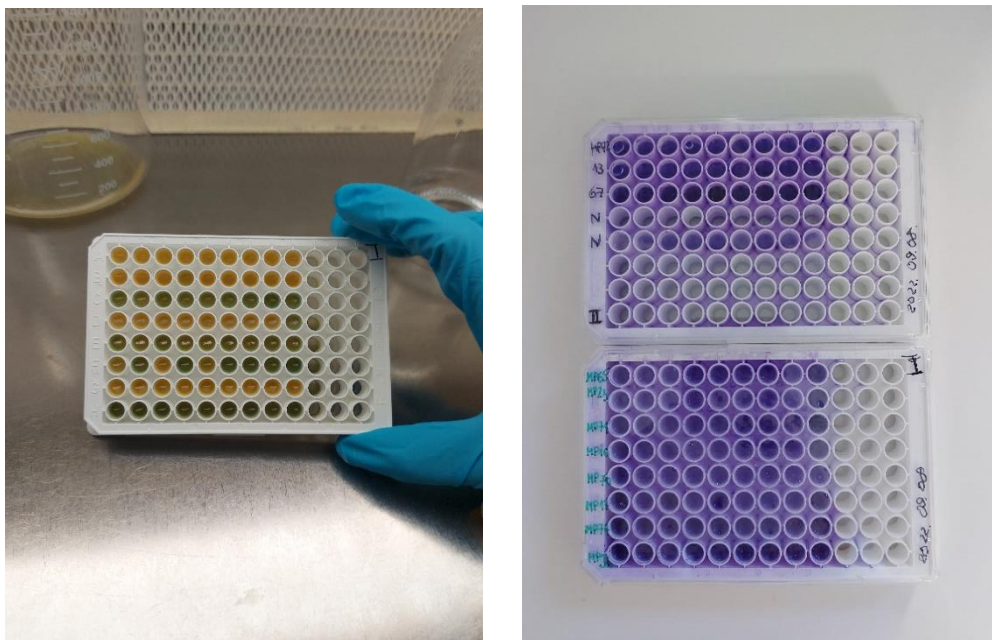
Az antibiotikum rezisztencia vizsgálatokat az ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) ajánlásai szerint végeztem. A környezeti eredetű baktériumtörzsek antibiotikum rezisztenciáját fenotípusos módszerrel (MIC teszttel®) vizsgáltam meg, mely módszer lehetővé teszi az antibiotikumokkal szembeni ellenállóképesség számszerű kiértékelését a minimális gátló koncentrációk meghatározásával. A vizsgálni kívánt törzsekből friss overnight baktériumtenyészetet készítettem TGE-5 ferde táptalajra, ezt követően pedig 0,5 McFarland zavarosságú baktérium szuszpenziót állítottam össze 0,9%-os fiziológiás sóoldatban. A kész, homogén szuszpenziót 20 ml előre megöntött Mueller-Hinton táptalaj felületére steril vattapálca segítségével három irányba szélesztettem, majd steril csipesz használatával egy csészébe egy antibiotikum hatóanyagot tartalmazó MIC tesztsíkot helyeztem el. Ezt követően a 24 órán keresztül 35°C-on inkubáltam a tesztsíkkal ellátott baktériumtörzseket. Az inkubációs idő leteltével a tesztsík körül kialakuló gátlási ellipszis és a tesztsík metszéspontjában (breakpoint) a minimális gátló koncentráció érték leolvasható. Bizonytalan leolvasási eseteknél a gyártó (AbBiodisk) utasításainak megfelelően végeztem a leolvasást. A vizsgálat során tízféle, hat hatóanyagcsoportba tartozó antibiotikum készítményt alkalmaztam, melyeket részletesen az alábbi táblázatban mutatok be:

3. Táblázat: A vizsgálat során felhasznált antibiotikumok			
Antibiotikum neve	Hatóanyagcsoport	Vizsgált koncentrációgrádiens	AwaRe besorolás (WHO)
Cefepime	Cefalosporinok	0.016-256 mg/L	feltételesen alkalmazható
Ceftazidime	Cefalosporinok	0.016-256 mg/L	feltételesen alkalmazható
Ciprofloxacin	Fluorokinolonok	0.002-32 mg/L	feltételesen alkalmazható
Colistin	Polimixinek	0.016-256 mg/L	végző esetben alkalmazható
Doripenem	Kabrapenemek	0.002-32 mg/L	feltételesen alkalmazható
Gentamicin	Aminoglükozidok	0.016-256 mg/L	széles körben alkalmazható
Imipenem	Carbapenemek	0.016-256 mg/L	feltételesen alkalmazható
Levofloxacin	Fluorokinolonok	0.002-32 mg/L	feltételesen alkalmazható
Meropenem	Carbapenemek	0.002-32 mg/L	feltételesen alkalmazható
Piperacillin	Penicillinek	0.016-256 mg/L	feltételesen alkalmazható

A táblázatban felsorolt hatóanyagok reprezentatív jelleggel képviselik a *P. aeruginosa* esetében jelenleg terápiás jelentőséggel bíró csoportokat, így a vízmintákból származó törzsekre vonatkoztatott megállapításokat ezen készítmények MIC (minimális gátló koncentráció) értékei alapján tettem. A minimális gátló koncentráció értékeket az EUCAST ajánlásai alapján minősítettem.

3.5. Biofilmképzés vizsgálatai

A kiválasztott tiszta *P. aeruginosa* baktériumtörzsek biofilmképző képességét, valamint annak erősségét a Stepanovic és munkatársai által publikált, módosított mikrotiter plate módszer alapján vizsgáltam meg (Stepanovic et al. 2000). Két darab 96 lyukú, steril műanyag mikrotiter lemezre 11 kiválasztott törzsből 20 µl baktérium szuszpenziót és 230 µl TGE1 tápoldatot pipettáztam (lásd 7. ábra).



7. ábra: Biofilmképző képesség vizsgálata, 2022 (saját felvétel)

Párhuzamos kontroll minták esetén 250 µl mikrobamentes tápoldatot tartalmaztak a lemez mélyedései. A lemezeket 96 órán keresztül 35°C-on inkubáltam. A baktérium szuszpenzió zavarosságát a nagyobb pontosság érdekében Genesys 10S UV-VIS készülék segítségével állítottam be. A készülék adszorbanciát mér és azt OD (optikai denzitás) értékben fejezi ki. A baktériummentes táptalaj zavarosságához viszonyítva vizsgálni kívánt baktériumtörzsek adszorbanciáját 600 nm mikrohullámhosszon állítottam be $OD_{600}=0.6(\pm 0,002)$ értékre. Az inkubációs idő lejártá után a lemezek összes mélyedését kitisztítottam, majd 250 µl foszfát-sóoldattal (PBS oldat: 8g NaCl; 0,2g KCl; 1,44g Na_2HPO_4 ; 0,24g KH_2PO_4 ; 1 l desztillált víz) háromszor is átmostam. A lemez mélyedéseinek oldalára felapadt baktérium sejteket 250 µl 99,9%-os metanollal fixáltam 15 percen keresztül, majd a lemez tartalmát ismét kiöntöttem. A továbbiakban 250 µl, 5%-os kristályibolya festék oldattal megfestettem a fixált baktérium sejteket, majd 20 percen át szobahőmérsékleten pihentettem. A lemez mélyedéseit desztillált vízzel mostam át és visszaoldottam az oldalára tapadt, lila színűre festett baktérium sejteket 33%-os jégecet alkalmazásával. A leolvasás során a minták optikai denzitását 550 nm-es

hullámhosszon mértem be a BioTek ELx800 Absorbance Microplate Reader (BioTek, USA) készülék segítségével. Az eredményeket szintén a Stepanovic és munkatársai (Stepanovic et al. 2000) által publikált tanulmány szerint értékeltem, a törzseket a biofilmképző képesség alapján a negatív kontrollhoz viszonyítva négy csoportba soroltam:

- | | |
|--|-----------------------------|
| 1. $OD \leq OD_c$ | nincs biofilm képzés (0) |
| 2. $OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$ | gyenge biofilm képzés (+) |
| 3. $2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$ | közepes biofilm képzés (++) |
| 4. $4 \times OD_c < OD$ | erős biofilm képzés (+++), |

ahol OD_c értékét a negatív kontrol szórásának háromszorosát összeadva a negatív kontroll átlag OD értékével kaptam meg.

4. Eredmények és értékelések

4.1. Helyszíni és fizikokémiai vizsgálatok eredményei

A Zagyva vízfolyáson elvégzett helyszíni mérések eredményei alapján a kémiai és fizikai paraméterekre vonatkozóan (pH, vezetőképesség, vízhőmérséklet, oldott oxigénszint, redoxipotenciál) nem tapasztaltunk kiugró értékeket. A felszíni befogadó pH értéke jellemzően 8 és 8,4 közötti tartományban mozgott és 1100-1200 μS közötti vezetőképességet mértünk. A vízhőmérsékletet nagyban befolyásolta a külső hőmérséklet, illetve az alacsony vízszint. A tisztított szennyvíz hőmérséklete jellemzően magasabb volt, mint a befogadóé, azonban a szennyvízbefolyó alatti víztestben mértük a legmagasabb hőfokot. A Közép-Tisza-vidéki Vízügyi Igazgatóság mérési adatai alapján a vizsgálati időszak (2022 május – 2022 július) rendkívül aszályos volt a vizsgálati térségben: 2022 májusban a vízügyi igazgatóság területén átlagosan 13 mm csapadék hullott (Jászberény térségében 20,5 mm), júniusban 25,3 mm (Jászberény: 50,7 mm), júliusban pedig 17,8 mm (Jászberény: 20,4 mm), mely messze elmarad a sokéves havi területi átlagtól (http9-http11). Ez az átlagnál melegebb időjárással társulva rendkívül alacsony vízszinteket eredményezett a vizsgálati területen.

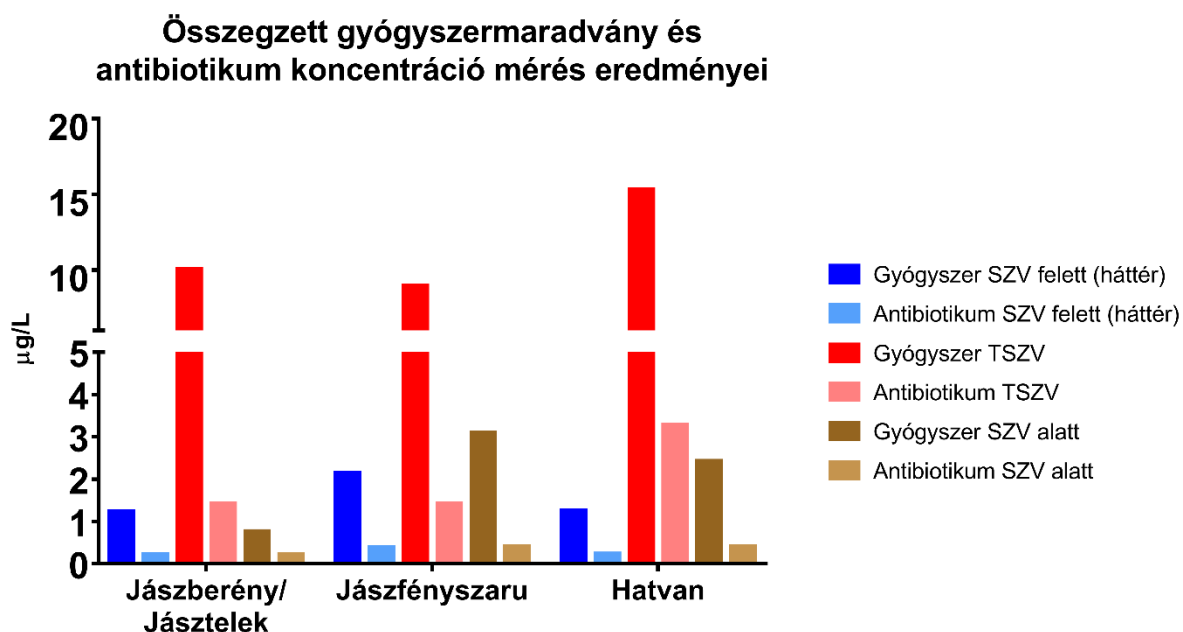
4.2. Antibiotikum és gyógyszermaradványok

A mintavizsgálati időszakban két alkalommal nyílt lehetőségünk a Zagyva vízfolyáson analitikai vizsgálatok végrehajtására, melyek közül egy időpontban, májusban áll rendelkezésre hiánytalan adatsor, ezért ennek az eredményeit közlöm. Az analitikai eredményekből könnyen kiszámítható a tisztított szennyvízben és a felszíni vizekben mért összes gyógyszerkoncentrációt, az antibiotikum maradványokra vonatkozó adatokból pedig az összes antibiotikum koncentráció. Mindhárom mérési helyszínen, az összes gyógyszermaradványra vonatkozó eredményt foglalja össze a 4. táblázat és a 8. ábra.

4. Táblázat: Gyógyszer- és antibiotikum koncentrációk

	Jászberény/Jásztelek		Jászfényszaru		Hatvan	
	Össz. gyógyszer $\mu\text{g/L}$	Össz. antibiotikum $\mu\text{g/L}$	Össz. gyógyszer $\mu\text{g/L}$	Össz. antibiotikum $\mu\text{g/L}$	Össz. gyógyszer $\mu\text{g/L}$	Össz. antibiotikum $\mu\text{g/L}$
2022. május						
SZV felett (háttér)	1,229	0,219	2,135	0,384	1,248	0,228
TSZV	10,01	1,42	8,92	1,41	15,3	3,28
SZV alatt	0,76	0,205	3,097	0,40	2,417	0,406

SZV – szennyvíz, TSZV- tisztított szennyvíz



8. ábra: Összes gyógyszerkoncentráció mérési eredményei

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a három vizsgálati helyszín közül a jászfényszarui helyszín esetében legnagyobb a gyógyszerterhelés, míg Jászberény/Jásztelek vízfolyása esetén a legkevesebb. Meg kell említenem, hogy ezen a helyszínen az analitikai vizsgálatok eredményei alapján a szennyvízbefolyó felett nagyobb a víztest gyógyszerterhelése, mint a szennyvízbevezetés alatt. Ennek oka lehet, hogy a Zagyva a Jászberény/Jászteleknél elhelyezkedő tisztított szennyvíz belépési pontja előtt is rendelkezik más bekötési pontokkal. Ettől eltekintve általánosnak mondható, hogy minden helyszín esetében a tisztított szennyvíz gyógyszermaradvány koncentrációja mutatja a legnagyobb értéket, mely a befogadóba érkezve azonnal hígul, ennek ellenére a bevezetés után egyértelműen megemeli a befogadó víztestben mérhető mennyiséget. Leolvasható a táblázatból, hogy az összes kimutatható gyógyszermaradvány viszonylag kis százalékát teszik ki az antibiotikumok, leginkább a gyulladáscsökkentők, görcsoldók, kardiovaszkuláris készítmények jelennek meg nagy koncentrációban. A Jászfényszarunál tapasztalható kiugró értékek összefüggésbe hozhatók a település szélén üzemelő ipari létesítmények (pl. Samsung Electronics) nagy számú foglalkoztatottja által kibocsátott szennyvíz mennyiségével és annak minőségével. A részletes analitikai vizsgálatok alapján a leggyakrabban kimutatott antibiotikumok közé sorolható a fluorokinolonok hatóanyagcsoportjába tartozó **ciprofloxacin**, norfloxacin, nalidixsav és ofloxacin, linkozamid antibiotikumok, mint a linkomicin és a klindamicin, makrolidok, mint az azitromicin, illetve a klaritromicin, szulfonamid és

trimetoprim típusú antimikrobiális szerek, mint a szulfadiazin, szulfadimidin, szulfametoxazol, szulfapiridin, trimetoprim. A felsoroltak közül egyedül a ciprofloxacinnal, amire kiterjedt a vizsgálatom.

4.3. Colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek száma és összetétele

A colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek kimutatása során megállapított telepszámokat foglalja össze az 5. táblázat.

5. Táblázat: Telepszám a colistin (COL) és carbapenem (CRE) tartalmú Chromatic táptalajokon						
	Jászberény/Jásztelek		Jászfényszaru		Hatvan	
	COL	CRE	COL	CRE	COL	CRE
2022. május						
SZV felett (háttér)	18	3	8	5	8	5
TSZV	17	8	n.d.	n.d.	42	44
SZV alatt	11	35	1	3	32	29

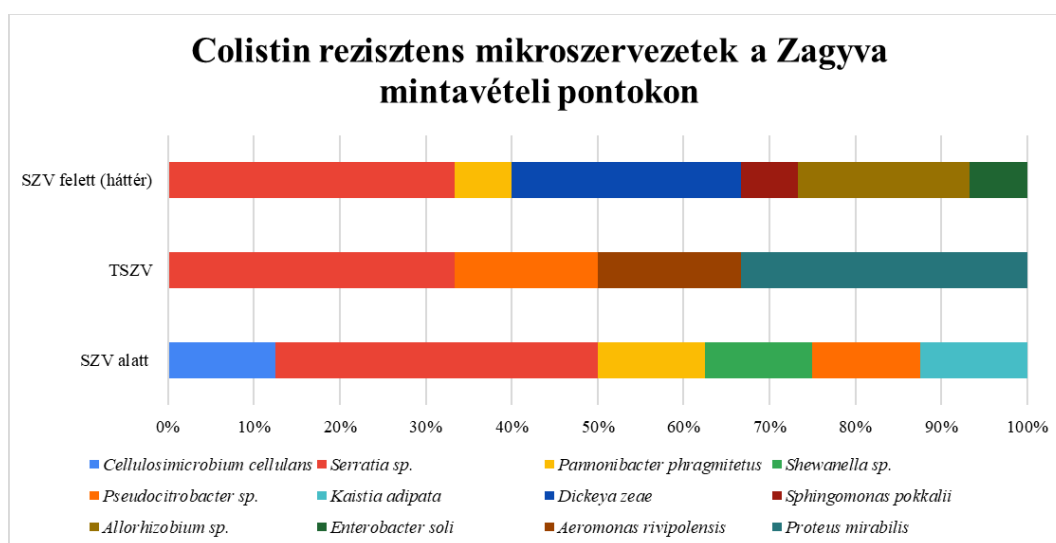
N.d. – nincs adat (szennyvízbevezetés a mintavétel időpontjában nem történt), SZV – szennyvíz, TSZV- tisztított szennyvíz

A colistin és carbapenem tartalmú táptalajokról leszámolható telepek alapján összefüggésbe hozható a telepszám mennyisége azzal, hogy szennyvízbevezetés felett, helyén vagy alatt került megvételre az adott minta. Jól látható, hogy a tisztított szennyvíz bevezetésének hatására a vízből kimutatható COL és CRE rezisztens mikroszervezetek száma egy nagyságrenddel növekszik. Ezek alapján kijelenthetjük, hogy a szennyvízterhelés feltehetően nem csak gyógyszermaradványokat, hanem antibiotikum rezisztens mikroszervezeteket is közvetít a felszíni víz befogadóba. Általánosságban a Zagyva vizével keveredve azonnal jelentős csökkenés észlelhető a COL/CRE rezisztens mikrobaszámban, a hatvani és a jászberényi/jászteleki mintavételi helyszínen azonban megállapítható, hogy a szennyvízbevezetés hatására megnövekedett colistin/carbapenem rezisztens mikrobaszám a bevezetés alatt is fennmarad. Így ezen a helyszínen a szennyvíztisztító rendelkezik egy bizonyos fokú távolhatással is a mikrobaközösség rezisztens tagjaira nézve.

Szennyvízbevezetés felett vett mintából több colistin rezisztens telepképző egységet számoltam le a lemezekről, míg a szennyvízbevezetés alól vett mintákban javarészt a carbapenem rezisztens baktériumok jelentek meg többségben. Mint ahogy a gyógyszerkoncentráció esetében, itt szintén kimutatható, hogy a Jászberény/Jásztelek mintavételi helyszínnél a szennyvízbefolyó felett vett mintából több colistin rezisztens mikroszervezet volt leszámolható, mint alatta, illetve a többi helyszínen vett mintákkal

összehasonlítva is szignifikáns az eltérés. Ezzel szemben ugyanezen a helyszínen ez nem jellemző a carbapenem rezisztens mikroszervezetek kimutathatóságára.

A colistin rezisztens mikroszervezetek esetében elvégzett faj szintű identifikáció eredményeit foglalja össze a 9. ábra. Az ábrán látható, hogy a colistin rezisztens mikroszervezetek közül mindhárom mintából a colistinnek természetes módon ellenálló *Serratia* sp., a tisztított szennyvízben pedig a *Serratia* nemzetség mellett szintén természetes colistin rezisztenciával rendelkező, klinikai körülmények között húgyuti fertőzések megbetegedéseket okozó *Proteus* fajok jelennek meg a legnagyobb gyakorisággal. A szakirodalom szerint a felszíni vízhez kötődő *Aeromonas* nemzetség képviselői természetükből adódóan érzékenyek a colistinre (Aghapour et al. 2022), mégis sikerült azonosítanom egy colistin rezisztens törzset a tisztított szennyvízbekötés helyén vett mintából.



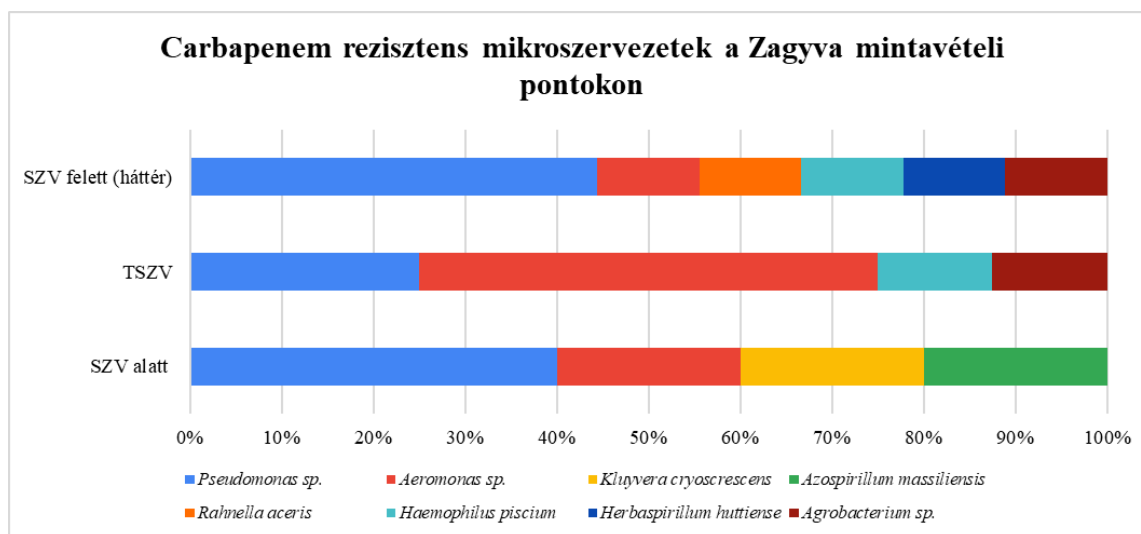
9. ábra: Azonosított COL rezisztens mikroszervezetek

A háttérmintában nagy számban megjelenő *D. zeae* egy növényi patogén, melynek előfordulása talajokban jellemző, megjelenése növényi szerves anyag lebontására utalhat (Martinez-Cisneros et al. 2014). A faj colistin rezisztenciájára utaló információt a szakirodalomban nem találtam, így jelentőségének megállapítása további vizsgálatokat igényel.



10. ábra: Telepképző egységek COL tartalmú Chromatic táptalajon, 2022 (saját felvétel)

A carbapenem rezisztens mikroszervezetek identifikációjának eredményeit foglalja össze a 11. ábra. A carbapenemek jelenleg az egyik legelterjedtebb alkalmazásban lévő antimikrobiális szerek a multirezisztens *P. aeruginosa* által okozott fertőzések megbetegedésekkel szemben, azonban a szerzett carbapenem rezisztencia elterjedése jelentős mértékben befolyásolja a gyógyszer hatásosságát, elsősorban a carbapenemáz gének terjedése révén (Rodríguez-Martínez et al. 2009). A carbapenem rezisztens mikroszervezetek közül vizsgálataim során a *Pseudomonas* és az *Aeromonas* nemzetségek képviselőit izoláltam legnagyobb számban. Klinikai viszonyok között mindkét nemzetség esetében kimutatták, hogy a szerzett β -laktamázok összefüggésben állhatnak a carbapenem rezisztencia kialakulásával. A szennyvízbevezetés alatt szintén nagy arányban kimutatható a *Kluyvera cryocrescens* faj, melynek esetében kórházi szennyvízből származó törzs esetében igazolták a carbapenem rezisztenciáért felelős, átadható *Bla_{ndm-1}* gén jelenlétét (Li et al. 2019).



11. ábra: Azonosított CRE rezisztens mikroszervezetek

4.4. *Pseudomonas aeruginosa* – kimutatási gyakoriság

A *P. aeruginosa* kimutathatósága mindegyik mintavételi helyszínen összefügg a vízfolyás szennyvíz terhelésével. A három helyszínen összesen 11 *P. aeruginosa* törzs került detektálásra, ebből 2 a hatvani tisztított szennyvízből, 4 a hatvani szennyvízkifolyó alatt, 1 Jászfényszaru tisztított szennyvizéből, 1 Jászberény tisztított szennyvizéből, 2 a jászberényi szennyvízbevezetés alatt, 1 pedig a jászberényi városi Zagyvából. Mivel a *P. aeruginosa* csak a tisztított szennyvízből, illetve a szennyvízzel keveredett Zagyvából kimutatható, a szennyvízbekötés felett nem, ezért egyértelmű az összefüggés a *P. aeruginosa* kimutathatósága és a szennyvízbekötés között, ahogyan azt Crone és munkatársai is megállapították (Crone et al. 2020). Igaz, hogy a városi Zagyva a mérési koncepció szerint

háttérmentának számít, azonban az, hogy keresztül folyik Jászberény területén, nagyban befolyásolja a vízfolyás szennyezettségét, hiszen kitettsége miatt terhelés érheti az illegálisan használt szennyvíz-bekötések és hulladéklerakás révén. Megállapítható, hogy bár a *P. aeruginosa* a szakirodalom szerint ubikviter mikroorganizmus, vagyis megtalálható a talajban, vízben, levegőben és élőlényekben egyaránt, ennek ellenére a vizsgálat eredményei alapján vizes környezetbe leginkább antropogén hatás (szennyvízbevezetés) következtében kerül be.

4.5. Antibiotikum rezisztencia vizsgálat eredményei

A környezeti mintákból izolált szennyvízeredetű MP törzsgyűjteményből összesen 8 előzetesen kiválasztott, kiemelt környezetegészségügyi jelentőséggel bíró baktériumtörzset vontam vizsgálatba, melyből 7 törzs a *P. aeruginosa*, az MP72-es törzs pedig a *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* faj képviselője volt. Az antibiotikum rezisztencia fenotípusos módszerrel történő meghatározásának eredményét az alábbi táblázatban ismertetem:

6. Táblázat: Antibiotikum rezisztencia vizsgálat Minimális Gátló Koncentráció (MIC) eredményei a vizsgált <i>P. aeruginosa</i> és <i>K. pneumoniae</i> törzsek esetében									
	Törzsgyűjteményi jel								Rezisztencia (EUCAST) ***
Antibiotikumok	MP13	MP17	MP65	MP67	MP70	MP71	MP72 **	MP74	
	MIC (mg/L)								
Cefepime	8*	.047	3	4	1.5	1.5	2	4	8
Ceftazidime	3	.19	3	1.0	1.5	2	1.0	1.5	8
Ciprofloxacin	.094	.016	.125	.047	.094	.032	.38	.19	0.5
Colistin	2	1.0	2	2	2	2	3	1.5	4
Doripenem	3.8*	.064	.25	1	.25	1	.38	.38	2
Gentamicin	2	.75	1.0	1.5	3	1.0	1.5	2	8
Imipenem	4*	1.0	4*	6*	4*	4*	3	6*	4
Levofloxacin	.50	.047	.38	.38	.38	.50	1	.38	2
Meropenem	.50	.023	.19	1.5	.125	1	.38	.25	8
Piperacillin	6	2	4	6	4	3	8	6	16

*Rezisztencia

***Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis*

***(EUCAST) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022 alapján

Az antibiotikum rezisztencia vizsgálatok eredményei alapján ellenállóképességet csak a carbapenemek csoportjába tartozó doripenem és imipenem, továbbá a cefalosporinokhoz sorolandó cefepime esetében azonosítottam, melyek azonban klinikai szempontból kiemelt jelentőséggel bíró készítmények, így hatástalanságuk aggodalomra adhat okot. Az MP13 jelű

P. aeruginosa törzs multirezisztensnek tekinthető, mivel háromféle, két különböző hatóanyagcsoportba tartozó antibiotikummal szemben rezisztenciát mutat. A doripenem kizárólag erre az egy törzsrre nem fejtett ki antimikrobiális hatást, így esetében a kiemelt jelentőségű carbapenemek közül két készítmény is hatását veszítette. A vizsgált törzsek többsége imipenemre rezisztens volt, összesen csak két törzs mutatott vele szemben érzékenységet, mely szintén figyelmeztető jel lehet a carbapenem rezisztens törzsek környezeti elterjedtségére vonatkozóan.

4.6. Biofilmképzés vizsgálatának eredményei

A polisztirol felületen tapasztalható biofilmképző képességre vonatkozó vizsgálatok eredményeit foglalja össze a 7. táblázat.

7. Táblázat: A <i>P. aeruginosa</i> és <i>K. pneumoniae</i> törzsek biofilmképző képességének a vizsgálati eredménye				
Minta száma	Faj	Származási hely	Biofilm képzés (számszerűsítve)	Biofilm képzés
MP13	<i>P. aeruginosa</i>	H SZV alatt	1,433	gyenge
MP17	<i>P. aeruginosa</i>	JB szennyvíz	2,334	mérsékelt
MP65	<i>P. aeruginosa</i>	H szennyvíz	1,204	gyenge
MP67	<i>P. aeruginosa</i>	H SZV alatt	3,902	mérsékelt-erős
MP70	<i>P. aeruginosa</i>	JSZF szennyvíz	1,464	gyenge
MP71	<i>P. aeruginosa</i>	JB SZV felett	2,349	mérsékelt
MP72	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i>	JB szennyvíz	1,296	gyenge
MP74	<i>P. aeruginosa</i>	JB SZV alatt	3,443	mérsékelt

H SZV – Hatvan szennyvíz, JB – Jászberény, JB SZV – Jászberény szennyvíz, JSZF - Jászfényszaru

Eredményeim alapján a vizsgálat baktériumtörzsek mindegyike képes gyengén vagy mérsékeltén a biofilm képzésre a mikrotiter plate polisztirol (PS) anyagú felületén. Az MP67 jelzésű, Hatvan, szennyvízbekötés alatt izolált baktériumtörzs mutatta a legerősebb biofilmképző képességet. Bordós és munkatársai (2019) alapján a polisztirol hazai viszonyok között is gyakori mikroműanyag szennyező felszíni vizek üledékében, így eredményeim alapján feltételezhető, hogy a vizsgált szennyvízeredetű törzsek a mikroműanyag formájában megjelenő polisztirol felületén is képesek lehetnek adszorbeálódni.

5. Következtetések és javaslatok

A felszíni víztestekbe vezetett tisztított kommunális szennyvizek egyértelműen jelentős hatást gyakorolnak a befogadó vízminőségére, azonban az olyan aszályos periódusokban, mint a vizsgálati időszakunk, a befogadó számára ez jelenti az egyetlen vízutánpótlási lehetőséget. Az aszályos időszak következtében a kis vízhozamú víztestben nagyobb mennyiségben feldúsulhat a gyógyszermaradványok és ezen belül az antibiotikumok koncentrációja és a környezetegészségügyi jelentőséggel rendelkező mikroorganizmusok száma is nagyobb lehet, mint egy csapadékosabb időszak alatt. A tisztított kommunális szennyvíz bevezetésével egyértelműen összefüggésbe hozható a vízmintákból kimutatható antibiotikum rezisztens mikroszervezetek telepszáma és faji összetétele. A vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a colistin és carbapenem rezisztens kórokozók száma bizonyítottan megemelkedik a bevezetett tisztított szennyvízzel összefüggő antibiotikum terhelés hatására. Ez arra enged következtetni, hogy a környezetbe kikerülő különféle antibiotikumok könnyedén okozhatnak rezisztenciát olyan mikroszervezetekben, melyekre ez a környezetben eddig ritkán vagy egyáltalán nem volt jellemző. Érdekes lehet a további vizsgálatok során a szennyvízbekötő alatt 10, 20, 50 méterenként mintázni a víztestet a szennyvíztisztító távolhatásának megállapítása érdekében, illetve javasolt lehet a helyszínek mintázása csapadékosabb időszakban. A dolgozatom keretében elvégzett kutatások eredményei alapján általánosságban elmondható, hogy a *P. aeruginosa* jelenléte a felszíni vízi környezetben leginkább antropogén, szennyvízterhelés hatására vezethető vissza. A szennyvíz eredetű baktériumok – ez esetben a *P. aeruginosa* – nem érik el a klinikai antibiotikum rezisztencia szintet, azonban jellemző rájuk a biofilm képzése polisztirol felületen. Bordós et al. (2019) tanulmánya kimutatta, hogy a magyarországi felszíni vízi üledékben gyakori a polisztirol, ezen kívül a felszíni vizekben szintén nagy mennyiségben mutatható ki a polipropilén (PP) és a polietilén (PE) (Bordós et al. 2019). A jövőben így érdemes lehet a biofilmképződés vizsgálatát elvégezni ezeknek a műanyagtípusoknak a bevonásával is.

A vizsgálatom fő tárgyát képző *P. aeruginosa* faj képviselői opportunistá patogén mikroszervezetek, a szennyvízzel terhelt befogadókban ezért az átlagosnál nagyobb jelentőséggel bírhatnak, így környezetegészségügyi kockázatuk a jövőben az aszályos periódusok gyakoriságának növekedésével emelkedhet. A mikroműanyagok felületén potenciálisan biofilmet képző, antibiotikum rezisztenciával rendelkező mikroszervezetek könnyedén terjeszthetik a rezisztenciát okozó géneket. A rezisztens törzsek esetében a

későbbiekben ajánlatos az izolált colistin és carbapenem rezisztenciáért felelős gének azonosítása PCR (kvalitatív eredmény) és qPCR (kvantitatív eredmény) segítségével.

Eredményeim alapján javasolt lenne a szennyvíztisztító telepeken a mikroműanyagok szűrésére alkalmas berendezések és eszközök használata, illetve az antibiotikumok és a patogén mikroszervezetek tisztítására alkalmas harmadik fázisú szennyvíztisztítási eljárás rendszeres alkalmazása, ezen paraméterek folyamatos mérése. Ajánlott lehet a fent említett szennyező anyagokra jogszabály által meghatározott kibocsátási határértékek megállapítása.

6. Összefoglalás

A felszíni víztestek terhelésében nagy szerepet játszik a tisztított kommunális szennyvíz bevezetése. A kijuttatott tisztított szennyvizekkel együtt a környezetbe kerülhetnek olyan fizikai, kémiai és biológia szennyező anyagok, mint a mikroműanyagok, antibiotikumok és patogén mikroszervezetek, melyekre jelenleg kevés figyelem irányul. A mikroműanyagok abiotikus felületként szolgálhatnak az antibiotikumok és a biofilmképzésre képes mikroszervezetek egyidejű megtapadásához, így hozzájárulhatnak a környezeti antibiotikum rezisztencia kialakulásához és terjedéséhez, mely környezetegészségügyi kockázatot jelenthet.

A TDK dolgozatom elkészítése során célom volt egy intenzív szennyvízterhelés alatt álló felszíni vízi befogadó, a Zagyva mentén az antibiotikum terhelés, az antibiotikum rezisztens mikroszervezetek felmérése és a kiemelt közegészségügyi jelentőséggel bíró *Pseudomonas aeruginosa* faj környezeti képviselőinek a jellemzése antibiotikum rezisztenciára és biofilmképző képességre vonatkozóan.

A 2022. május-július között időszakban három mintavételi hely (Jászberény, Jászfényszaru, Hatvan) esetében helyszínenként három mintavételi pont került vizsgálatra (szennyvíztisztító bekötési pontja felett, a bekötés helyén és alatt). Meghatároztuk a vízminták fizikokémiai paramétereit, a gyógyszermaradványok és ezen belül az antibiotikumok koncentrációját, a colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek számát, összetételét és a *P. aeruginosa* faj jelenlétét.

Eredményeim alapján a tisztított szennyvíz jelentős gyógyszer- és antibiotikum terhelést jelent a felszíni befogadóra. A szennyvízbekötés szoros összefüggésben áll a colistin és carbapenem rezisztens mikroszervezetek számával és összetételével. A *P. aeruginosa* faj esetében igazoltam, hogy kimutathatósága egyértelmű összefüggésben áll a szennyvízbevezetéssel. Az azonosított hét *Pseudomonas aeruginosa* és egy *Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* törzs 10 hatóanyag vizsgálata alapján jellemzően antibiotikum érzékeny volt, azonban környezeti jelenlétük további vizsgálatok elvégzését indokolhatja. A biofilmképző képesség vizsgálati eredményei alapján megállapítottam, hogy a vizsgált *P. aeruginosa* és *K. pneumoniae* törzsek mindegyike képes biofilmet képezni polisztirol felületen, mely alapján szerepük lehet egyes mikroműanyagok kolonizációjában is.

Mivel a természetes vizekben jelenlévő mikroműanyagok a gyógyszermaradványok és patogén mikroszervezetek vektorának tekinthetők, célszerű lenne olyan intézkedéseket bevezetni a szennyvíztisztító telepeken, melyek megelőzik a felsorolt szennyező anyagok kijutását a környezetbe, például mikroműanyagok szűrésére alkalmas berendezések és

eszközök használatával, az antibiotikumok és a patogén mikroszervezetek tisztítására alkalmas harmadik fázisú szennyvíztisztítási eljárás rendszerszintű alkalmazásával, illetve a felsorolt paraméterek folyamatos monitoringozásával. Ajánlott lehet a fent említett szennyező anyagokra jogszabály által meghatározott kibocsátási határértékek megállapítása.

7. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Kaszab Editnek, aki amellet, hogy lehetőséget biztosított az AKI Környezetbiztonsági Tanszékén zajló kutatási munkában való részvételre és segítette számomra a laboratóriumi rutin elsajátítását, szakmai felkészültségével és értékes tanácsaival támogatta a munkám elkészülését.

Továbbá szeretném kifejezni hálámat Dr. Szabó Istvánnak és Dr. Csenki-Bakos Zsoltnek, akik áldozatos munkájukkal segítették a kísérletem elvégzéséhez szükséges mintavételi eszközök terepi kihelyezését és begyűjtését.

A TDK dolgozat elkészítését támogatta az Innovációs és Technológiai Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a Piacvezérelt Kutatás-fejlesztési és Innovációs Projektek támogatása pályázati program finanszírozásában megvalósult 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2021-00239 számú projekt és a Tématerületi Kiválósági Program Nemzeti Kihívások Alprogram (TKP2020-NKA-16). Dzsudzsák Emília Laura munkáját az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-2022-1-I-MATE/11, Dr. Kaszab Edit témavezetői munkáját az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-22-5-MATE/6 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatása segítette.

Nem utolsó sorban szeretném megköszönni családomnak és barátaimnak, hogy az élet minden területén bátorítanak és támogatnak, illetve szüleimnek, hogy megteremtették annak lehetőségét, hogy ez a dolgozat elkészülhessen.

8. Irodalomjegyzék

- Aghapour Z., Gholizadeh P., Ganbarov K., Bialvaei A. Z., Mahmood S. S., Tanomand A., Yousefi M., Asgharzadeh M., Yousefi B., Kafil H. S. (2019) Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae, *Infection and Drug Resistance*, 12, 965-975
- Albertsson A., Andersson S. O., Karlsson S. (1987): The mechanism of biodegradation of polyethylene, *Polymer Degradation and Stability*, p.73-87
- Allen H. K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., Handelsman J. (2010): Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat Rev Micro* 8, 251–259.
- Aminov, R.I. (2011): Horizontal gene exchange in environmental microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 2(158): 1–19.
- Barcs I. (2001): Rezisztencia problémák – probléma baktériumok. *Infektológia és Klinikai Mikrobiológia*, 8:68–74.
- Barcs I. (2006): Az antibiotikum-érzékenység és -rezisztencia. A Semmelweis Egyetem Orvosi Mikrobiológiai Intézetének kiadványa, Budapest, 20 p.
- Barótfi I. (szerk.) (2000) *Környezettechnika*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 981 p.
- Benkő R., Matuz M., Hajdú E., Bor A., Doró P., Viola R., Soós Gy. (2016): Hazai kórházi antibiotikum-alkalmazás az elmúlt két évtizedben (1996–2015), *Orvosi Hetilap*, 2016, 157, 46, 1839–1846.
- Bérdy J. (2013): Antibiotikumok jelene és jövője, *Orvosi Hetilap* 2013, 154, 563-573.
- Bordós G., Urbányi B., Micsinai A., Kriszt B., Palotai Z., Szabó I., Hantosi Zs., Szoboszlai S. (2019): Identification of microplastics in fish ponds and natural freshwater environments of the Carpathian basin, Europe. *Chemosphere*, 216: 110–116.
- Colvin, K.M., Irie, Y., Tart, C.S., Urbano, R., Whitney, J.C., Ryder, C., Hwell, P.L., Wozniak, D.J., Parsek, M.R (2011): The Pel and Psl polysaccharides provide *Pseudomonas aeruginosa* structural redundancy within the biofilm matrix. *Environmental Microbiology*, 14(8):1913–1928.
- Crone S., Vives-Flórez M., Kvich L., Saunders A. M., Malone M., Nicolaisen M. H., Martínez-García E., Rojas-Acosta C., Gomez-Puerto M. C., Calum H., Whiteley M., Kolter R., Bjarnsholt T. (2020): The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*, Volume 128, 3, 220-231.
- Dussud, C., and Ghiglione, J.-F. (2014): Bacterial degradation of synthetic plastics in Marine Litter in the Mediterranean and Black Seas, ed. F. Briand (Paris: CIESM Publisher), 180
- El-Sayed Ahmed M. A. E. G., Zhong L-L., Shen C., Yang Y., Doi Y., Tian G-B. (2020): Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019), *Emerging Microbes & Infections*, 9, 868-885.
- Farré M., Pérez S., Kantiani L., Barceló D. (2008): Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment, *Trends Anal. Chem.*, 27 (2008) 991-1007.
- Fernández, L., and Hancock, R.E.W. (2012). Adaptive and Mutational Resistance: Role of Porins and Efflux Pumps in Drug Resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 25, 661–681.
- Füst Zs. (2004): *Farmakológia*. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1248 p.
- Gerencsérné B. R., Rácz G., Galamos I. (2015), Gyógyszermaradványok eltávolítása különböző típusú vizekből, In: Simon L., Vincze Gy. (szerk.): *Szennyvizek és szennyvíziszapok hasznosítása a régió fenntartható mezőgazdaságáért*, Nyíregyházi Főiskola, Nyíregyháza, 120 p., 21-32 p.
- Ghaidak, D. M., & Yadav, K. D. (2013): Characteristics and treatment of greywater—A review. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 2795–2809.
- Grant, N., Moodie, M., Weedon, C. (2009): *Szennyvízkezelés*, Cser Kiadó, Budapest, 2, 17-23. pp.
- Hancock RE. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative gram-negative bacteria. *Clin Infect Dis*. 1998 Aug.; 27 (Suppl 1): S93–S99.

- He S., Jia M., Xiang Y., Song B., Xiong W., Cao J., Peng H., Yang Y., Wang W., Yang Z., Zeng G. (2022): Biofilm on microplastics in aqueous environment: Physicochemical properties and environmental implications, *Journal of Hazardous Materials*, 424B, Article 127286.
- Heather A. Leslie, Martin J.M. van Velzen, Sicco H. Brandsma, A. Dick Vethaak, Juan J. Garcia-Vallejo, Marja H. Lamoree (2022): Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood, *Environment International*, Volume 163
- Heberer T., Hydrol J. (2002), Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water, *Journal of Hidrology*, 266 (2002) 175-189.
- Helenkár A, Sebök Á, Záray G, Molnár-Perl I, Vasanits-Zsigrai A. 2010. The role of the acquisition methods in the analysis of the non-steroidal anti-inflammatory drugs in Danube River by gas chromatography-mass spectrometry. *Talanta*, (2):600-7.
- Howard, A., O'donoghue, M., Feeney, A., Sleator, R. D. (2012): *Acinetobacter baumannii*, an emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3): 243–250.
- Hussein N. H., Al-Kadmy I. M. S., Taha B. M., Hussein J. D. (2021): Mobilized colistin resistance (mcr) genes from 1 to 10: a comprehensive review. *Mol Biol Rep*, 48(3):2897–2907.
- İpekoglu, B., Böke, H., and Çizer, Ö. (2007). Assessment of material use in relation to climate in historical buildings. *Build. Environ.* 42, 970–978p.
- Jacquin, J., Cheng, J., Odobel, C., Pandin, C., Conan, P., Pujo-Pay, M., Barbe, V., Meistertzheim, A-L., Ghiglione, J-F. (2019): Microbial Ecotoxicology of Marine Plastic Debris: A Review on Colonization and Biodegradation by the “Plastisphere”. *Front. Microbiol.* 10, 865.
- Kalmár F. (szerk.) (2014), *Fenntartható energetika*, Akadémiai Kiadó, Budapest, 403 p.
- Kárpáti, Á. (2011) *Vízgazdálkodás – szennyvíztisztítás*. Szerk Domokos, E. *Környezetmérnöki Tudástár*. 10 kötet. Pannon Egyetem, Környezetmérnöki Intézet, pp. 241.
- Kaszab E. (2022): Előadás anyaga, Gödöllő
- Kotchen M., Kallaios J., Wheeler K, Wong C., Zahller M. (2009): Pharmaceuticals in wastewater: Behavior, preferences, and willingness to pay for a disposal program, *J. Environ. Management*, 90 (2009) 1476-1482.
- Krueger, M. C., Harms, H., and Schlosser, D. (2015). Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 8857–8874.
- Kümmerer K. (2001): Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic acids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review, *Chemosphere*, 45 (2001) 957-969.
- Li Y., Luo L., Xiao Z., Wang G., Li C., Zhang Z., Zhou Y., Zhang L. (2019): Characterization of a Carbapenem-Resistant *Kluyvera Cryocrescens* Isolate Carrying Blandm-1 from Hospital Sewage. *Antibiotics (Basel)*, 8(3):149.
- Magiorakos A-P., Srinivasan A., Carey R. B., Carmeli Y., Falagas M. E., Giske C. G., Harbarth S., Hindler J. F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist, B., Paterson D. L., Rice L. B., Stelling J., Struelens M. J., Vatopoulos A., Weber J. T., Monnet D. L. (2012): Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3): 268–281.
- Majorovics É. (2018): Newborn pharmacology: fever and pain management, systemic treatment of infections, *Bőrgyógyászati és Venerológiai Szemle*, 94, 54-61.
- Martinez, J.L. (2014). General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discov. Today Technol.* 11, 33–39.
- Martinez-Cisneros B.A., Juarez-Lopez G., Valencia-Torres N., Duran-Peralta E., Mezzalama M.(2014): First Report of Bacterial Stalk Rot of Maize Caused by *Dickeya zeae* in Mexico. *Plant Dis.* 2014 Sep;98(9):1267.
- Mccarty S., Woods E., Percival S. L. (2014): Biofilms: Concept to Reality. In: Percival, S. L., Williams, D. W., Randle, J., Cooper, T. (ed.): *Biofilms in Infection Prevention and Control*. Academic Press, San Diego, USA, 396 p., 143–164. p

Mouton, J. W., Touzw, D. J., Horrevorts, A. M., Vinks, A. A. (2000): Comparative pharmacokinetics of the carbapenems: Clinical implications. *Clin. Pharmacokinet.* 2000, 39, 185–201.

Németh J. (2019): A negyedik fokozatú szennyvíztisztítás műszaki, gazdasági, környezeti hatásai, Doktori (Ph.D.) értekezés, Pannon Egyetem, Veszprém, 124 p.

Németh N. (2004): Vizes élőhelyek (wetland) szerepe a tájban és hasznosításuk a szennyvíztisztításban, *Tájökológiai Lapok* 2 (1): 49–63.

Norpoth K., Nehrkorn A., Kirchner M., Holsen H., Teipel H. (1973): Untersuchungen zur Frage der Löslichkeit und Stabilität ovulationshemmender Steroide in Wasser, Abwässern und Belkechtschlamm, *Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. I. Abt. Orig. B*, 156, (1973) 500-511.

Opinion in Microbiology, 13: 589–594.

Opinion of the Scientific Steering Committee on Antimicrobial Resistance (1999): European Commission, Directorate-General XXIV. Consumer Policy and Consumer Health Protection Directorate B -Scientific Health Opinions Unit B3- Management of scientific committees II, 20 May 1999, 121 p.

Osenbrück K., Gläser H. R., Knöller K., Weise, S.M. Möder M., Wennrich R., Schirmer M., Reinstorf F., Busch W., Strauch G. (2007): Sources and transport of selected organic micropollutants in urban groundwater underlying the city of Halle (Saale), Germany, *Water Res.*, 41 (2007) 3259-327.

Öllös, G. (1990): K+F eredmények, I. Csatornázás; II. Szennyvíztisztítás, Aqua Kiadó, Budapest.

Parrag T. K. (2021), Mikroműanyagok előfordulása és kockázatuk csökkentése, *Védelem Tudomány*, 4(1): 103-121.

Pitout J. D. D., Peirano G., Kock M. M., Strydom K-A., Matsumura Y. (2019): The Global Ascendancy of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1): e00102-19.

Radó J. (2019): Ubikviter baktériumok környezetbiztonsági vizsgálata, Doktori értekezés, SZIE, Gödöllő, 116 p.

Reddy, A.S., Nair, A.T. (2022): The fate of microplastics in wastewater treatment plants: An overview of source and remediation technologies, *Environmental Technology & Innovation*, 28, Article 102815

Rodríguez-Martínez J. M., Poirel L., Nordmann P. (2009): Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53, 11, 4783-4788.

Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B., Čvabec-Vlahovic M. (2000): A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40:175–179.

Szabó, I., Al-Omari, J., Szerdahelyi, G.S. et al. (2021): In Situ Investigation of Plastic-Associated Bacterial Communities in a Freshwater Lake of Hungary. *Water Air Soil Pollut* 232, 493 p.

Szaniszló A. (2020): A Szennyvíz hatása a növények fejlődésére, elemfelvételére és gáz kibocsátásra (CO₂, N₂O, NO), Doktori értekezés, SZIE, Gödöllő, 132 p.

Tabak H., Brunch R. L., (1970): Steroid hormones as water pollutants I. Metabolism of natural and synthetic ovulation inhibiting hormones by micro-organisms of activated sludge and primary settled sludge, *Develop. Ind. Microbiol.*, 11 (1970) 367-376.

Tamás J. (2008), *Vízkezelés és szennyvíztisztítás. Észak-alföldi Régióért Kht.*, Budapest, 176 p.

The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022.

Walsh, C. (2003): *Antibiotics: Actions, Origins, Resistance*, American Society for Microbiology (ASM), Washington, 335 p.

WRIGHT, G. D. (2010): Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? *Current*

Yarsley, V. E. & Couzens, E. G. (1945), *Plastics*, Middlesex: Penguin Books Limited

Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. and Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA and whole genome assemblies. *Int J Syst Evol Microbiol.* 67:1613-1617.

Zhanel G.G., Wiebe R., Dilay L., Thomson K., Rubinstein E., Hoban D. J., Noreddin A. M., Karlowsky J.A. (2007): Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67, 1027–1052.

Zsolnai P. (2014): Biofilm kolonizáció követése molekuláris mikrobiológiai módszerekkel szennyvíztisztító rendszerben, Diplomadolgozat, ELTE, Budapest, 47 p.

World Health Organization. (2019). The 2019 WHO AWaRe classification of antibiotics for evaluation and monitoring of use. World Health Organization.

Internetes hivatkozások

http1: Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Kémiai és Környezeti Folyamatmérnöki Tanszék http://kkft.bme.hu/attachments/article/68/Szv%C3%ADz%20jegyz%20Aerob_technol%C3%B3gi%C3%A1k.pdf (Hozzáférés ideje: 2022 szeptember)

http2: Európai Parlament Kommunikációs Főigazgatóság (2021): A műanyaghulladék mennyisége és újrahasznosítása az EU-ban (infografika). Ref: 20181212STO21610 <https://www.europarl.europa.eu/news/hu/headlines/society/20181212STO21610/a-muanyag-hulladek-mennyisege-es-ujrahasznositasa-az-eu-ban-infografika>, (Hozzáférés ideje: 2022 augusztus)

http3: World Wildlife Foundation http://awsassets.panda.org/downloads/plastic_ingestion_press_singles.pdf (Hozzáférés ideje: 2022 szeptember)

http4: Fővárosi vízművek <https://www.vizmuvek.hu/files/public/new/altalanos-pdf/meg-tobb-reszlet-gyogymaradvanyokol.pdf> (Hozzáférés ideje: 2022 szeptember)

http5: Európai Bizottság <https://antibiotic.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/factsheet-for-general-public-hu.pdf> (Hozzáférés ideje: 2022 szeptember)

http6: Európai Bizottság https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip_05_1687/IP_05_1687_EN.pdf (Hozzáférés ideje: 2022 szeptember)

http7: Nemzeti Népegészségügyi Központ https://www.antsz.hu/felso_menu/rolunk/sajto/sajtokozlomenyek/160418_oek_modszertani_level_mrk.html (Hozzáférés ideje: 2022 október)

http8: EzBioCloud <https://www.ezbiocloud.net/> (Hozzáférés ideje: 2022 október)

http9: https://kotivizig.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=2328:meleg-es-aszalyos-majus&catid=20:hirdetmenyek&Itemid=52 (Hozzáférés ideje: 2022 október)

http10: https://www.kotivizig.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=2338:rekord-csapadekhiany-2022-els-feleben&catid=20:hirdetmenyek&Itemid=52 (Hozzáférés ideje: 2022 október)

http11: https://kotivizig.hu/index.php?option=com_content&view=article&id=2369:a-legszarazabb-els-het-honap-1963-ota&catid=44:hidrometeorologiai-elemzesek&Itemid=65 (Hozzáférés ideje: 2022 október)

Jogszabályok, szabványok

1. 10/2000. (VI. 2.) KöM-EüM-FVM-KHVM együttes rendelet a felszín alatti víz és a földtani közeg minőségi védelméhez szükséges határértékekről
2. 28/2004. (XII. 25.) KvVM rendelet a vízszennyező anyagok kibocsátásaira vonatkozó határértékekről és alkalmazásuk egyes szabályairól
3. 220/2004. (VII. 21.) Korm. rendelet a felszíni vizek minősége védelmének szabályairól
4. 58/2013. (II. 27.) Korm. rendelet a víziközmű-szolgáltatásról szóló 2011. évi CCIX. törvény egyes rendelkezéseinek végrehajtásáról
5. Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2019/4 rendelete (2018. december 11.) a gyógyszeres takarmányok előállításáról, forgalomba hozataláról és felhasználásáról, a 183/2005/EK európai

parlamenti és tanácsi rendelet módosításáról, valamint a 90/167/EGK tanácsi irányelv hatályon kívül helyezéséről

6. MSZ 12750-2:1971. Felszíni vizek vizsgálata.
7. MSZ EN ISO 5667-1:2007. Mintavétel felszíni vizekből.

9. Melléklet

Sample ID	Sampling site (location)	Time of sampling	Designation of strain	DNA isolation	16S PCR	Species (16S rDNA)	% level of similarity (Exbiocloud.net)	bp	seq prime
MP-1	Hatvan, upstream	29 March 2022	HF-CRE-1	+	+	<i>Rahnella aceris</i>	99,54	655	8f
MP-2	Zagyva, upstream	29 March 2022	ZF-COL-1	+	+	<i>Serratia grimesii</i>	99,67	609	8f
MP-3	Zagyva, upstream	29 March 2022	ZF-CRE-1	+	+	<i>Haemophilus piscium</i>	99,35	618	8f
MP-4	Városi Zagyva, upstream	29 March 2022	VZ-COL-1	+	+	<i>AKMR_s</i>	99,48	580	8f
MP-5	Városi Zagyva, upstream	29 March 2022	VZ-CRE-1	+	+	<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	99,82	546	8f
MP-6	Zagyva, downstream	29 March 2022	ZA-COL-1	+	+	<i>Shewanella xiamenensis</i>	99,09	548	8f
MP-7	Zagyva, downstream	29 March 2022	ZA-CRE-1	+	+	<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	99,43	525	8f
MP-8	Zagyva, downstream	29 March 2022	ZA-CRE-2	+	+	mixed			8f
MP-9	Zagyva, downstream	29 March 2022	ZA-CRE-3	+	+	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	98,46	518	8f
MP-10	Zagyva, downstream	29 March 2022	ZA-CETR	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	567	8f
MP-11	Hatvan, downstream	29 March 2022	HA-COL-1	+	+	mixed			8f
MP-12	Hatvan, downstream	29 March 2022	HA-CRE-1	+	+	<i>Pseudomonas marginalis</i>	99,6	494	8f
MP-13	Hatvan, downstream	29 March 2022	HA-CRE-2	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	553	8f
MP-14	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-COL-1	+	+	<i>Proteus mirabilis</i>	99,11	562	8f
MP-15	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-COL-2	+	+	<i>Aeromonas rivipollensis</i>	99,48	577	8f
MP-16	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-COL-3	+	+	<i>Proteus mirabilis</i>	99,84	610	8f
MP-17	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-CRE-1	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	607	8f
MP-18	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-CRE-2	+	+	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	100	612	8f
MP-19	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-CRE-3	+	+	<i>Haemophilus piscium</i>	99,35	618	8f
MP-20	Zagyva, sewage	29 March 2022	ZSZV-CETR	+	+	<i>Escherichia fergusonii</i>	98,56	557	8f
MP-21	Principális canal, upstream	02 May 2022	PRI-FP-COL-1	+	+	<i>Sphingomonas pokkali</i>	98,75	642	8f
MP-22	Principális canal, upstream	02 May 2022	PRI-FP-COL-2	+	+	<i>Sphingomonas pituitosa</i>	99,82	545	8f
MP-23	Principális canal, upstream	02 May 2022	PRI-FP-CRE-1	+	+	<i>Pseudomonas kitaguniensis</i>	99,69	645	8f
MP-24	Principális canal, upstream	02 May 2022	PRI-FP-CRE-2	+	+	<i>Pseudomonas cichorii</i>	99,36	627	8f
MP-25	Principális canal, upstream	02 May 2022	PRI-FP-CRE-3	+	+	<i>Pseudomonas marginalis</i>	99,62	530	8f
MP-26	Principális canal, downstream	02 May 2022	PRI-AP-COL-1	+	+	<i>Sphingomonas pokkali</i>	98,45	647	8f
MP-27	Principális canal, downstream	02 May 2022	PRI-AP-COL-2	+	+	mixed			8f
MP-28	Principális canal, downstream	02 May 2022	PRI-AP-COL-3	+	+	<i>Agrobacterium nepotum</i>	96,92	552	8f
MP-29	Principális canal, downstream	02 May 2022	PRI-AP-CRE-1	+	+	<i>Pseudomonas syringae</i>	99,35	620	8f
MP-30	Principális canal, downstream	02 May 2022	PRI-AP-CRE-2	+	+	<i>Xanthomonas campestris</i>	99,84	620	8f
MP-31	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-COL-1	+	+	<i>Sphingomonas pituitosa</i>	99,85	647	8f
MP-32	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-COL-2	+	+	<i>Serratia myotis</i>	98,69	612	8f
MP-33	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-COL-3	+	+	<i>Serratia fonticola</i>	99,54	653	8f
MP-34	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-CRE-1	+	+	<i>Shewanella xiamenensis</i>	98,69	611	8f
MP-35	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-CRE-2	+	+	<i>Microvirgula aerodenitrificans</i>	99,67	604	8f
MP-36	Nagykanizsa	02 May 2022	NKAEFF1-CETR-1	+	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	99,84	609	8f

MP-37	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-CRE	+	+	FJ950566_s	99,14	582	8f
MP-38	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-COL-1	+	+	Cellulosimicrobium cellulans	99,69	637	8f
MP-39	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-COL-2	+	+	Serratia grimesii	99,68	632	8f
MP-40	Hatvan, upstream	16 May 2022	HV-F-COL-1	+	+	Sphingomonas pokkali	99,20	623	8f
MP-41	Hatvan, upstream	16 May 2022	HV-F-COL-2			n.d.			8f
MP-42	Hatvan, upstream	16 May 2022	HV-F-COL-3	+	+	Allorhizobium vitis	98,76	566	8f
MP-43	Hatvan, upstream	16 May 2022	HV-F-CRE	+	+	Pseudomonas orientalis	99,68	624	8f
MP-44	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-CRE-1	+	+	Pseudomonas guangdongensis	99,82	563	8f
MP-45	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-CRE-2	+	+	Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila	100	678	8f
MP-46	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-COL-1	+	+	Serratia fonticola	99,7	671	8f
MP-47	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-COL-2	+	+	mixed			8f
MP-48	Jászberény, Zagyva upstream	16 May 2022	JB-ZF-CRE	+	+	Pseudomonas syringae	99,85	651	8f
MP-49	Jászberény, Zagyva upstream	16 May 2022	JB-ZF-COL			n.d.			8f
MP-50	Jászberény, Városi Zagyva do	16 May 2022	JB-VZA-CRE	+	+	mixed			8f
MP-51	Jászberény, Városi Zagyva do	16 May 2022	JB-VZA-COL	+	+	Pseudocitrobacter faecalis	98,89	628	8f
MP-52	Jászberény, Zagyva downstream	16 May 2022	JB-ZA-COL	+	+	Serratia marcescens	99,89	645	8f
MP-53	Jászberény, Városi Zagyva up	16 May 2022	JB-VZF-CRE	+	+	Herbaspirillum huttiense subsp. putei	100	637	8f
MP-54	Jászberény, Városi Zagyva up	16 May 2022	JB-VZF-COL	+	+	Allorhizobium terrae	98,09	577	8f
MP-55	Jászberény, sewage inlet	16 May 2022	JB-SZV-CRE-1	+	+	Agrobacterium pusense	100	643	8f
MP-56	Jászberény, sewage inlet	16 May 2022	JB-SZV-CRE-2	+	+	Aeromonas allosaccharophila	99,69	644	8f
MP-57	Jászberény, sewage inlet	16 May 2022	JB-SZV-COL	+	+	Pseudocitrobacter vendiensis	98,88	625	8f
MP-58	Jászfényszaru, upstream	16 May 2022	JFSZ-F-CRE	+	+	Pseudomonas peli	100	700	8f
MP-59	Jászfényszaru, upstream	16 May 2022	JFSZ-F-COL-1	+	+	Serratia marcescens	99,85	666	8f
MP-60	Jászfényszaru, upstream	16 May 2022	JFSZ-F-COL-2	+	+	Allorhizobium oryzae	98,83	683	8f
MP-61	Jászfényszaru, downstream	16 May 2022	JFSZ-AL-CRE			n.d.			8f
MP-62	Jászfényszaru, downstream	16 May 2022	JFSZ-AL-COL	+	+	Serratia fonticola	99,85	659	8f
MP-63	Jászfényszaru, sewage inlet	16 May 2022	JFSZ-TSZV-CRE	+	+	short			8f
MP-64	Jászfényszaru, sewage inlet	16 May 2022	JFSZ-TSZV-COL	+	+	Serratia myotis	99,53	635	8f
MP-65	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-2-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	664	8f
MP-66	Hatvan, sewage inlet	16 May 2022	HV-TSZV-3-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	656	8f
MP-67	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-1-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	695	8f
MP-68	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-2-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	674	8f
MP-69	Hatvan, downstream	16 May 2022	HV-AL-3-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	700	8f
MP-70	Jászfényszaru, sewage inlet	16 May 2022	JSZF-TSZV-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	100	712	8f
MP-71	Jászberény, Városi Zagyva up	16 May 2022	JB-VZA-1-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa	99,85	681	8f
MP-72	Jászberény, sewage inlet	16 May 2022	JB-SZV-1-CETR	+	+	Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis	99,16	595	8f
MP-73	Jászberény, sewage inlet	16 May 2022	JB-SZV-2-CETR	+	+	short			8f
MP-74	Jászberény, Zagyva downstream	16 May 2022	JB-ZA-1-CETR	+	+	Pseudomonas aeruginosa			8f

MP-75	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Hafnia alvei	100	568	8f
MP-76	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	FMIQ_s	100	632	8f
MP-77	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Pseudomonas syringae	98,58	634	8f
MP-78	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Pseudomonas frederiksbergensis	99,83	575	8f
MP-79	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Raoultella electrica	99,54	646	8f
MP-80	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Agrobacterium pusense	99,51	614	8f
MP-81	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	mixed			8f
MP-82	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Arthrobacter ruber	99,11	564	8f
MP-83	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Pseudomonas cichorii	99,15	710	8f
MP-84	Veszprém	23 May 2022	VESZ	+	+	Pseudomonas synxantha	100	664	8f
MP-85	Jászfényszaru, upstream	13 Jul 2022	JFF-COL-1	+		Pannonibacter phragmitetus	99,83	601	8f
MP-86	Jászfényszaru, upstream	13 Jul 2022	JFF-COL-2			n.d.			
MP-87	Jászberény, sewage inlet	13 Jul 2022	JBZSZV-COL	+		n.d.			8f
MP-88	Jászfényszaru, upstream	13 Jul 2022	JFF-CRE	+		Agrobacterium arseniivicii	100	646	8f
MP-89	Jászberény, downstream	13 Jul 2022	JBZA-CRE-1	+		Azospirillum massiliensis	98,81	588	8f
MP-90	Jászberény, downstream	13 Jul 2022	JBZA-COL-1	+		Kaistia adipata	100	568	8f
MP-91	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBZF-CRE	+		Pseudomonas marginalis	100	485	8f
MP-92	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBZF-COL-1	+		Serratia fonticola	99,38	483	8f
MP-93	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBZF-COL-2	+		Serratia fonticola	99,69	653	8f
MP-94	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBZF-COL-3	+		Enterobacter soli	99,04	626	8f
MP-95	Jászberény, sewage inlet	13 Jul 2022	JBZSZV-CRE	+		Aeromonas hydrophila subsp. hydrophila	99,84	608	8f
MP-96	Jászberény, sewage inlet	13 Jul 2022	JBVZA-COL-2	+		mixed			8f
MP-97	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBVF-COL-1	+		Dickeya zeae	99,34	608	8f
MP-98	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBVF-COL-2	+		Dickeya zeae	99,82	554	8f
MP-99	Jászberény, upstream	13 Jul 2022	JBVF-COL-3	+		Serratia marcescens	99,51	607	8f
MP-100	Kis-Balaton	13 Jul 2022	ZSHA-COL-2	+		Cellulomonas pakistanensis	99,16	595	8f
MP-101	Kis-Balaton	13 Jul 2022	ZSHA-COL-3	+		Neorhizobium vignae (maybe MP106)	96,45	451	8f
MP-102	Kis-Balaton	13 Jul 2022	ZSHA-COL-4	+		Roseomonas aestuarii	100	658	8f
MP-103	Kis-Balaton	13 Jul 2022	KIKO-COL	+		Allorhizobium oryzae	99,06	635	8f
MP-104	Kis-Balaton	13 Jul 2022	eo20-COL-2	+		Pannonibacter phragmitetus	99,38	646	8f
MP-105	Kis-Balaton	13 Jul 2022	eo20-COL-3	+		Herbaspirillum aquaticum	99,83	604	8f
MP-106	Hatvan, downstream	13 Jul 2022	HVA-COL-1	+		mixed			8f
MP-107	Hatvan, downstream	13 Jul 2022	HVA-COL-3	+		CP000633_s	97,7	651	8f
MP-108	Hatvan, downstream	13 Jul 2022	HVA-COL-4	+		Pannonibacter phragmitetus	99,69	647	8f
MP-109	Hatvan, upstream	13 Jul 2022	HVF-COL-2			n.d.			
MP-110	Hatvan, upstream	13 Jul 2022	HVF-COL-3	+		mixed			8f
MP-111	Hatvan, sewage inlet	13 Jul 2022	HVT-CRE	+		mixed			
MP-112	Hatvan, sewage inlet	13 Jul 2022	HVT-COL-1	+		mixed			