

DROBNOUSTROJE I ICH PRODUKTY – OPORNOŚĆ NA CZYNNIKI FIZYCZNE I CHEMICZNE

Gospodarek-Komkowska Eugenia

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

Różnorodne warunki środowiska, w jakich bytują drobnoustroje powodują liczne zagrożenia związane z ich homeostazą, a nawet życiem poprzez utratę stabilności białek i kwasów nukleinowych, osłon biologicznych, a także wielu składników, od których zależy przetrwanie. Drobnoustroje wykształciły wiele mechanizmów i strategii ochrony komórki przed niekorzystnymi warunkami środowiska, co pozwala im na optymalne funkcjonowanie w warunkach, które dla innych organizmów są śmiertelne. Właściwości te obejmują, m.in. obecność niskocząsteczkowych związków chemicznych stabilizujących konformacje białek i kwasów nukleinowych, bardziej termostabilnych enzymów czy zmodyfikowanych lipidów tworzących nadnaturalnie nieprzepuszczalne osłony, produkcję białek szoku cieplnego, błyskawiczną resyntezę ATP, aminokwasów i innych termolabilnych składników komórki, syntezę trehalozy i innych cząsteczek stabilizujących strukturę komórkową, zwiększone wytwarzanie specyficznych proteaz, zastąpienie nukleotydów nikotynamidowych przez stabilniejszą ferredoksynę czy zmianę ekspresji genów w komórce. Różne gatunki drobnoustrojów w różnym stopniu wykorzystują złożoność wymienionych mechanizmów i strategii.

Obecność wielu unikatowych właściwości drobnoustrojów powoduje, że organizmy te, jak i ich produkty mogą niekorzystnie oddziaływać na zdrowie i życie człowieka, ale też mają potencjalne zastosowania, m.in., w produkcji związków przeciwdrobnoustrojowych, peptydazy w przemyśle chemicznym do produkcji detergentów, syntezy aminokwasów, hydrolazy w cukrownictwie do przetwarzania skrobi w produkty niskocząsteczkowe (glukoza, maltoza, oligosacharydy), ksylanazy w przemyśle celulozowo-papierniczym do wybielania papieru, polimeraza Taq w rozwoju technik biologii molekularnej, celulazy w cukrownictwie, oczyszczaniu ścieków, przemyśle chemicznym, lipazy w przemyśle spożywczym, odzieżowym, kosmetycznym i farmaceutycznym.

Drobnoustroje ekstremofilne i ich produkty są obecnie źródłem intensywnych badań, głównie ze względu na swoje wyjątkowe właściwości i szerokie zastosowanie w przemyśle.

NATURALNE PEPTYDY PRZECIWDROBNOUSTROJOWE

Brzezińska-Błaszczuk* Ewa, Agier Justyna

Zakład Immunologii Doświadczalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Medyczny w Łodzi,

Nazywane naturalnymi antybiotykami peptydy przeciwdrobnoustrojowe (AMPs, ang. *antimicrobial peptides*) stanowią jeden z najstarszych ewolucyjnie mechanizmów obronnych. Obecnie znanych jest już 2981 peptydów przeciwdrobnoustrojowych wytwarzanych zarówno przez organizmy prokariotyczne jak i eukariotyczne. Należące do tej grupy peptydy cechują się niską masą cząsteczkową i są syntetyzowane w postaci dużych nieaktywnych pre-pro-peptydów. To pozwala na transkrypcyjną i potranskrypcyjną regulację ich syntezy oraz zabezpiecza przed ich niekontrolowaną aktywnością. Peptydy te syntetyzowane są przez różne komórki organizmu w tym komórki układu odpornościowego. AMP wykazują przede wszystkim bezpośrednie działanie przeciwbakteryjne, ale także przeciwwirusowe, przeciwgrzybicze i przeciw pasożytnicze. Przeciwdrobnoustrojowe peptydy cechują się również pośrednią aktywnością w stosunku do różnych mikroorganizmów. Przede wszystkim neutralizują aktywność biologiczną endotoksyn oraz hamują powstawanie biofilmów. Należy podkreślić, że peptydy te rozważane są także jako ważne cząsteczki efektorowe zdolne do kontrolowania odpowiedzi immunologicznej, zapalnej oraz przebiegu infekcji. Z uwagi na olbrzymią różnorodność AMP ich klasyfikacja jest bardzo trudna. Dwie duże i najlepiej poznane grupy AMP to katelicydyny i defensyny. U człowieka opisano tylko jedną katelicydynę LL-37 (leucyna-leucyna-37) oraz dwanaście defensyn, które ze względu na długość łańcucha aminokwasowego oraz umiejscowienie wiązań disiarczkowych podzielono na dwie grupy - α -defensyny i β -defensyny. Szerokie występowanie oraz zróżnicowanie AMP wskazuje, że peptydy te należy rozważać przede wszystkim jako ważne endogenne czynniki humoralne regulujące wiele procesów fizjologicznych i patologicznych. Dyskutowane jest także wykorzystanie ich jako nowych związków terapeutycznych, o działaniu przeciwinfekcyjnym i przeciwzapalnym.

PRZEMYSŁOWE ZASTOSOWANIA PROCESU STERYLIZACJI I HIGIENIZACJI RADIACYJNEJ

Rafalski Andrzej

Centrum Badań i Technologii Radiacyjnych, Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie

Sterylizacja, w najogólniejszym sensie, oznacza całkowite zniszczenie lub usunięcie wszystkich mikroorganizmów (bakterii, wirusów itp.) z danego materiału lub produktu. Do końca II Wojny Światowej jedyną metodą sterylizacji stosowaną w dużej skali była sterylizacja termiczna. Polegała ona na przetrzymywaniu w gotującej się wodzie sprzętu medycznego np. strzykawek, igieł, szczypiec itp. przez określony okres tuż przed zastosowaniem. Metoda była prosta, tania i skuteczna, były niestety wyjątki: np. wirusy żółtaczkowe były odporne na działanie temperatury 100°C. Wymusiło to stosowanie sprzętu jednorazowego użytku, czyli wyrzucanego po jednokrotnym zastosowaniu. Jednak konstrukcje stosowanych wówczas np. strzykawek były bardzo precyzyjne, a więc i za drogie do jednorazowego użytku.

Skonstruowano zatem prostszą, a więc tańszą, strzykawkę z materiałów polimerowych, przede wszystkim z polietylenu i polipropylenu. Ta konstrukcja była tańsza, jednak nie była odporna na wysoką temperaturę, a więc nie mogła być sterylizowana, tak jak dotąd, termicznie.

Wymusiło to opracowanie dwu niskotemperaturowych metod sterylizacji: sterylizację gazową i radiacyjną. Pierwsza z nich, sterylizacja gazowa, stosująca przede wszystkim tlenek etylenu jako środek bakteriobójczy, weszła do powszechnego użytku w połowie lat 40. ubiegłego wieku i nadal jest jedną z najpowszechniej stosowanych metod sterylizacji.

Chociaż bakteriobójcze działanie promieniowania jonizującego było obserwowane już pod koniec XIX wieku, to przemysłowe zastosowanie sterylizacji radiacyjnej rozpoczęło się w 1957 roku w USA: firma Ethicon Inc. zastosowała wiązkę szybkich elektronów do sterylizacji nici chirurgicznych przy użyciu liniowego akceleratora elektronów o mocy 4 kW i energii elektronów 6 MeV. Od tego czasu ta metoda sterylizacji rozwija się bardzo dynamicznie i dorównuje już pod względem przerobu metodzie gazowej.

Istnieją dwa rodzaje źródeł promieniowania jonizującego: źródła izotopowe wysyłające promieniowanie gamma i stosujące prawie wyłącznie promieniotwórczy izotop kobaltu Co^{60} oraz źródła elektryczne czyli akceleratory elektronów o wysokiej energii. W obu przypadkach promieniowanie to oferuje szereg korzyści w zastosowaniach:

- a. Promieniowanie jonizujące jest skutecznym narzędziem do sterylizacji wielu materiałów z wyjątkiem kilku rodzajów tworzyw sztucznych, szkła i, oczywiście, żywych narządów. Przy zwykle stosowanych dawkach sterylizacyjnych, promieniowanie nie powoduje dużego wzrostu temperatury napromieniowanego obiektu, zwykle od kilkunastu do ok. 30°C, co umożliwia sterylizację substancji wrażliwych na wyższe temperatury (jak np. enzymy, niektóre leki) i wyrobów z niskotopliwych polimerów. Jest to najlepsza, a często jedyna, metoda sterylizacji tkanek stosowanych w transplantologii.
- b. Wskutek wysokiej zdolności przenikania przez materię, promieniowanie jonizujące działa na wszystkie części napromieniowanego obiektu. Taki przedmiot może być przed sterylizacją

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

zapakowany w szczelnym, wytrzymałym i nieprzepuszczalnym dla mikroorganizmów opakowaniu. Okres trwałości tak zapakowanego i następnie prawidłowo wysterylizowanego obiektu jest w zasadzie bezterminowy, w praktyce zależy tylko od trwałości i szczelności opakowania, a nie od samej sterylizacji. Wcześniejsze pakowanie materiałów do sterylizacji ma tę zaletę, że eliminuje konieczność stosowania aseptycznych pomieszczeń i procedur. Ma to jeszcze tę psychologiczną zaletę, że gwarantuje użytkownikowi, że nikt nie dotykał danego obiektu po sterylizacji.

- c. Reaktywność chemiczna promieniowania jest niska w porównaniu z wysoką reaktywnością gazów stosowanych w sterylizacji gazowej, dlatego prawdopodobieństwo zajścia reakcji chemicznych, które prowadziłyby do powstania niekorzystnych zmian w produkcie, jest bardzo niskie. Z tego też względu promieniowanie umożliwia większą dowolność w doborze materiałów opakowaniowych. Wiele termoplastów może tu być stosowanych i współczynnik przenikania dla pary i gazów nie ma tu żadnego znaczenia. Chociaż niektóre tworzywa sztuczne wykazują niekorzystne zmiany po dużych dawkach promieniowania jonizującego (np. polipropylen, polichlorek winylu i inne), to obecnie są już dostępne handlowo mieszanki odporne na promieniowanie.
- d. Promieniowanie jonizujące przenika przez cały napromieniowany obiekt w momencie padania, stąd efekt tego napromieniowania jest natychmiastowy i jednoczesny w całym obiekcie, nie występują więc problem z powolnym przenikaniem ciepła lub z jeszcze powolniejszą dyfuzją gazu. Pozwala to przerwać proces sterylizacji w dowolnym momencie lub dodać precyzyjnie dodatkową dawkę promieniowania, gdyby zaszała taka potrzeba.
- e. Radiacyjna metoda sterylizacji może być łatwo zaadaptowana do procesu ciągłego, w przeciwieństwie do sterylizacji gazowej, która ze swojej natury musi być procesem periodycznym. Proces ciągły wymaga, na ogół, mniej pracy, jest natomiast praktyczny i ekonomiczny tylko przy dużej skali produkcji.
- f. Radiacyjna metoda sterylizacji jest najbardziej niezawodną i pewną metodą z wszystkich metod sterylizacji, ze względu na pewność, że źródło emituje promieniowanie o znanej (bo mierzonej) energii i mocy. Dlatego czas przebywania materiału pod wiązką elektronów jest jedynym parametrem wymagającym monitorowania i korygowania po ustabilizowaniu pracy całego akceleratora. Inne metody wymagają ciągłego monitorowania wielu parametrów takich jak: temperatura, ciśnienie, wilgotność, stężenie gazu i inne.

W ramach Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie od 1993 roku działa Stacja Sterylizacji Radiacyjnej Wyrobów Medycznych i Przeszczepów (SSR). Stacja jest jedynym ośrodkiem w Polsce wykonującym sterylizację radiacyjną wysokoenergetycznymi elektronami. Do tego celu wykorzystywany jest akcelerator „Elektronika” produkcji rosyjskiej wytwarzający wiązkę elektronów o energii 10 MeV i średniej mocy wiązki 10 kW. Stacja prowadzi działalność usługową w dziedzinie sterylizacji i higienizacji radiacyjnej, dając pełną gwarancję dostarczenia dawki wcześniej uzgodnionej z klientem.

W Stacji Sterylizacji Radiacyjnej Wyrobów Medycznych i Przeszczepów wykonuje się:

- sterylizację wyrobów medycznych i materiałów biomedycznych,
- sterylizację produktów leczniczych i opakowań do produktów leczniczych,
- sterylizację przeszczepów biostatycznych,

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

- modyfikację półprzewodników i pokrewnych produktów elektronicznych,
- sieciowanie polimerów.

Stacja w ramach działalności usługowej przeprowadza proces sterylizacji dla ok. 50 firm krajowych i zagranicznych. SSR wykonuje również napromieniowania w celach naukowych w dla potrzeb własnych Instytutu oraz w ramach współpracy z zewnętrznymi jednostkami naukowo-badawczymi.

SSR współpracuje z 4 bankami tkanek w Polsce: Krajowym Centrum Bankowania Tkanek i Komórek w Warszawie, Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach, Regionalnym Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Kielcach-Morawicy oraz Centrum Leczenia Oparzeń w Siemianowicach Śląskich i sterylizuje corocznie ponad 10 000 szt. przeszczepów. Współpraca obejmuje również prowadzenie interdyscyplinarnych badań we współpracy z lekarzami, biochemikami i bakteriologami.

Wysoka jakość realizowanego procesu sterylizacji radiacyjnej zapewniana jest poprzez:

- ciągle utrzymywanie i skuteczność istniejącej już usługi,
- wdrażanie nowych rozwiązań umożliwiających spełnienie terażniejszych jak również przyszłych oczekiwań klientów,
- niezawodność i terminowość realizacji zleceń,
- doradztwo w zakresie procesów radiacyjnych,
- podnoszenie poziomu umiejętności zawodowych pracowników Stacji Sterylizacji,
- szkolenia dla naszych klientów w celu przybliżenia im złożoności zagadnień związanych ze sterylizacją radiacyjną.

W Stacji Sterylizacji wprowadzony został System Zarządzania Jakością zgodny z wymaganiami normy PN-EN ISO 13485:2012. Po spełnieniu wszystkich warunków i procedur Stacja otrzymała certyfikat wydany przez Polskie Centrum Badań i Certyfikacji PCBC. Dodatkowo wszystkie wykonywane czynności i procedury obowiązujące w stacji są zgodne z normą PN EN ISO 11137 dotyczącą sterylizacji radiacyjnej oraz wymaganiami GMP, co potwierdzone zostało przyznaniem przez Główny Inspektorat Farmaceutyczny certyfikatu GMP.

WPLYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA SKUTECZNOŚĆ PRZECIWDROBNOUSTROJOWĄ PROMIENIOWEJ JONIZACJI KATALITYCZNEJ WOBEC BAKTERII NA POWIERZCHNIACH

Skowron Krzysztof, Grudlewska Katarzyna

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

WSTĘP

Promieniowa jonizacja katalityczna (RCI) pozwala zarówno na eliminację znajdujących się w powietrzu drobnoustrojów, jak i redukcję nieprzyjemnych zapachów. Utlenianie katalityczne, stymulowane promieniowaniem UV, powoduje powstawanie reaktywnych form tlenu. Ponadto, dochodzi do jonizacji powietrza, polegającej na wytwarzaniu kontrolowanej ilości ozonu, który wpływa na wzmocnienie efektu uzdatniania powietrza. Wcześniejsze badania wykazały także wpływ „aktywnego powietrza” na redukcję liczby drobnoustrojów znajdujących się na różnych powierzchniach.

CEL

Celem badań była ocena wpływu czasu działania RCI, temperatury otoczenia, odległości od urządzenia RCI i rodzaju zanieczyszczenia organicznego na skuteczność mikrobiobójczą urządzenia RCI w stosunku do szczepów *E. coli* O157:H7 (ATCC 43895), *L. monocytogenes* (ATCC 19111), *S. Enteritidis* ATCC 13076 i *S. aureus* ATCC 25213, naniesionych na powierzchnię stali i gumy.

MATERIAŁ I METODY

Dla badanych szczepów wykonano zawiesiny w jałowej soli fizjologicznej: (o gęstości optycznej 0,5 i 1,0 w skali McFarland’a). Zawiesiny o wyższej gęstości mieszano w stosunku 1:1 z zanieczyszczeniem organicznym. Po 50 µl gotowych zawiesin naniesiono na powierzchnie i pozostawiono do wyschnięcia. Powierzchnie poddawano działaniu RCI przez 0, 1, 6, 12 i 24 godz., w temperaturze 4, 20 i 37°C, w odległości 0, 0,5, 1 i 2 m od urządzenia oraz po zanieczyszczeniu powierzchni pulpą mięsno-rybną, mleczno-serową i warzywną. Po ekspozycji powierzchni ustalano stopień redukcji liczby bakterii.

WYNIKI

W zależności od użytego szczepu, rodzaju powierzchni oraz parametrów środowiska zmieniała się skuteczność antybakteryjna RCI. Im dłuższy czas działania RCI tym mniej bakterii izolowano z badanych powierzchni. Wraz ze wzrostem temperatury wzrastała skuteczność mikrobiobójcza RCI. Z kolei skuteczność RCI była najwyższa przy odległości 0,5 m. Wykazano, że dodatek jakiegokolwiek zanieczyszczenia organicznego istotnie ograniczał eliminację bakterii z powierzchni. Spośród użytych zanieczyszczeń, najmniej bakterii po działaniu RCI odzyskano z gumy i stali pokrytych pulpą warzywną.

WNIOSKI

1. Technologia RCI pozwala ograniczyć liczbę drobnoustrojów obecnych na powierzchniach.

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”*Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne*”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

2. Najlepszą efektywność uzyskano dla powierzchni wolnych od zanieczyszczeń organicznych, umiejscowionych stosunkowo blisko urządzenia, poddawanych długiemu działaniu technologii w możliwie jak najwyższej temperaturze.

AKTYWNOŚĆ POŁĄCZENIA CEFTOLOZANU Z TAZOBAKTAMEM W STOSUNKU DO PAŁECZEK GRAM-UJEMNYCH OPORNYCH NA KARBAPENEMY

Bogiel Tomasz¹, Sękowska Alicja¹, Matuszek Marta²

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu,

²Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii CM UMK

WSTĘP

Ceftolozan z tazobaktamem to połączenie nowej cefalosporyny i inhibitora beta-laktamaz, zatwierdzone w leczeniu powikłanych zakażeń dróg moczowych, w tym odmiedniczkowego zapalenia nerek oraz powikłanych zakażeń w obrębie jamy brzusznej (w połączeniu z metronidazolem). Wykazuje on aktywność wobec niektórych pałeczek z Rzędu *Enterobacterales* oraz szczepów *Pseudomonas aeruginosa*.

CEL

Celem pracy była ocena aktywności *in vitro* połączenia ceftolozanu z tazobaktamem w stosunku do pałeczek *P. aeruginosa* i *Klebsiella pneumoniae* opornych na przynajmniej jeden z karbapenemów (imipenem i/lub meropenem).

MATERIAŁ I METODY

Metodą paska z gradientem stężeń antybiotyku oceniono wartości minimalnego stężenia hamującego namnażanie bakterii (MIC) 51 szczepów *P. aeruginosa* i 48 z gatunku *K. pneumoniae*, izolowanych w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii CM UMK od pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dra A. Jurasza w Bydgoszczy. Kryterium włączenia do badań stanowiła oporność izolatu na przynajmniej jeden z karbapenemów (imipenem i/lub meropenem). Każdy szczep z gatunków wybranych do badań izolowany był od innego pacjenta.

WYNIKI

Ponad 86% szczepów *P. aeruginosa* i około 27% izolatów z gatunku *K. pneumoniae*, opornych na przynajmniej jeden z karbapenemów, pozostawało wrażliwych na połączenie ceftolozanu z tazobaktamem.

WNIOSKI

3. Połączenie ceftolozanu z tazobaktamem w warunkach *in vitro* wykazuje aktywność w stosunku do zdecydowanej większości szczepów *P. aeruginosa* opornych na imipenem i/lub meropenem i może stać się alternatywą w leczeniu zakażeń wywoływanych przez szczepy o takim fenotypie lekowrażliwości.
4. Aktywność *in vitro* połączenia ceftolozanu z tazobaktamem wobec opornych na karbapenemy szczepów *K. pneumoniae* nie wydaje się zadowalająca, prawdopodobnie ze względu na częste nakładanie się u szczepów tego gatunku mechanizmów oporności, np. beta laktamaz, które nie są hamowane przez tazobaktam.

**ZASTOSOWANIE NADTLENUKU WODORU W PROCESIE DEKONTAMINACJI
I STERYLIZACJI**

Święcikowski Jakub

unitedMed

1. Historia zastosowania nadtlenuku wodoru
2. Bezpieczeństwo stosowania
3. Proces sterylizacji plazmą zbudowaną na nadtlenuku wodoru
4. Kontrola procesu - walidacja
5. Zastosowanie nadtlenuku wodoru w procesie dekontaminacji pomieszczeń.
6. Czy można zwalidować proces dekontaminacji pomieszczeń.
7. Co pokazują badania.