

Uusia antibiootteja jätteistä, TWIN-A-konsortio



Tutkimuksen tavoite

Tutkimme teollista kompostia ja jätevedenpuhdistusprosessia mahdollisuuksina löytää ja tunnistaa biofilmejä muodostavien stafylokokki- ja pseudomonas-bakteerien sekä niiden vastustuskykyisten kantojen vastaisia uusia antibiootteja. Työssä käytämme tehokkaita bakteeribiofilmien tutkimusmenetelmiä ja mikrosysteemiteknoologioita.

Tutkimuksen tulokset

1. Antibiooteille vastustuskykyisten *Staphylococcus aureus* ja *Pseudomonas aeruginosa* -bakteerien esiintymistä jäteveden puhdistusprosessissa kartoitettiin reaaliaika-PCR:llä viidellä eri laitoksella. Molempia bakteereita havaittiin alhaisia määriä puhdistusprosessin mädätysvaiheeseen saakka. Havaittujen geenien kokonaismäärä oli huomattava suurien vesimäärien takia. Kompostointi- ja biokaasulaitosten alustavien tulosten perusteella *S. aureus* ja *P. aeruginosa* -bakteereita esiintyy erityisesti kompostoinnin varhaisessa vaiheessa. *S. aureuksen* biofilmien poly-*N*-asetyyli-glukosamiinia (PNAG) pilkkovia genejä löytyi 135:stä *S. aureuksen* genomista (8 geeniä kaikista genomeista ja 9 osasta genomeja). Geenin fylogeniapuihin muodostui useita haaroja, mikä osoittaa PNAG:ia pilkkovien entsyymien geenien suuren monimuotoisuuden.
2. Tauteja aiheuttavien bakteerien muodostama biofilmi johtaa usein antibioottihoidon epäonnistumiseen. Uusien biofilmiä tuhoavien antibioottien löytämiseksi teollisesta kompostista ja jätevedenpuhdistusprosessista olemme valmistaneet pinnoitettuja biosensoreita, joihin tutkimusbiofilmit voivat kiinnittyä lujasti. Tähän mennessä olemme onnistuneet tunnistamaan materiaaleja, joihin stafylokokki- ja pseudomonas-bakteerit kiinnittyvät. Lisäksi olemme tutkineet pintojen ominaisuuksien, etenkin karheuden vaikutusta *S. aureus* -bakteerien kiinnittymiseen ja biofilmin muodostukseen. Jatkotutkimuksiin valittu materiaali mahdollisti sen, että bakteerit saattoivat tuottaa

merkittävän määrän biofilmiä. Tämä puolestaan mahdollistaa biosensorikäytön selvittäessä jäteveden sisältämien bakteeriperäisten metaboliittien kykyä hajottaa biofilmin mahdollista hajottamista. Tätä tutkitaan seuraavaksi.

3. Antimikrobisia yhdisteitä tuottavien pieneliöiden tunnistamiseksi hankkeessa on kehitetty mikrosirumittakaavan kuoppalevy, jonka avulla pyritään eristämään yksittäisiä mikrobeja jäteveden puhdistusprosessin eri vaiheista kerätyistä näytteistä. Koska näitä mikrobeja ei välttämättä pystytä viljelemään laboratorio-olosuhteissa, on mikrosiru kehitetty kestämään jätevesilietteen olosuhteita, jotta mikrobeja voidaan eristämisen jälkeen viljellä autenttisissa ympäristössä. Hankkeessa kehitetty mikrosiru koostuu ruostumatonta terästä olevasta kehuksesta sekä polymeeripohjaisesta kuoppalevystä, jonka kuopat täytetään mikrobeja sisältävällä agar-matriisilla ja eristetään puoliläpäisevällä, huokoisella kalvolla. Kalvon tarkoituksena on (i) eristää mikrobeja karkaamasta kuopista lietteeseen ja toisaalta (ii) mahdollistaa keskeisten ravinteiden pääsy lietteestä bakteeriviljelyyn. Konsepti perustuu aiemmin julkaistuun työhön, jota tässä hankkeessa on jalostettu eteenpäin. Konseptin jatkokehityksessä on kiinnitetty huomiota erityisesti materiaalien valintaan mm. bioyhteensopivuuden ja tiiveyden näkökulmasta, mikrobien eristämisen tehokkuuteen, sekä eristettyjen mikrobien optisen tarkastelun tehostamiseen optisten mikrolinssien avulla. Tällä hetkellä mikrosirukonsepti on etenemässä validointivaiheeseen, jossa tullaan käyttämään autenttisia jäteveden puhdistusprosessista kerättyjä näytteitä.
4. Lisäksi kehitämme taipuisia painettavia biofilmisensoreita biofilmejä hajottavien yhdisteiden löytämiseksi jätteenkäsittelylaitoksissa. Kolmen erityyppisen sensorin kehitystyö on käynnissä: kemoresistiivinen sensori (KRS), elektrokemiallinen impedanssispektroskooppinen sensori (EISS) ja optinen sensori (OS). Kaikki nämä sensorit voidaan valmistaa kierrätettäville selluloosapohjaisille alustoille ja ne mahdollistavat reaaliaikaisen (KRS ja EISS) ja epäsuoran (OS) biofilmien aktiivisuuden seurannan. Kemiallisista indikaattoreista koostuvat optiset sensorit mahdollistavat biofilmien metabolisten tuotteiden tunnistuksen muodostamalla niille kullekin ominaisen sormenjäljen. EIS-sensoreilla saadut tulokset viittaavat siihen, että pystymme seuraamaan biofilmien kasvua ja myös erottamaan kuolleet biofilmit elävistä

antibioottikäsittelyn jälkeen. Seuraava vaihe on parantaa systeemin toimintaa ja aloittaa sensorien testaus monimutkaisemmilla näytteillä, kuten jätevesinäytteillä.

Lisätietoja:

- Dosentti Merja Kontro, ympäristötieteiden laitos, Helsingin yliopisto,
merja.kontro@helsinki.fi
- Professori Jouko Peltonen, fysikaalisen kemian laboratorio, Åbo Akademi,
jouko.peltonen@abo.fi
- Professori Jari Yli-Kauhaluoma, konsortion johtaja, lääketutkimusohjelma, Helsingin yliopisto
- jari.yli-kauhaluoma@helsinki.fi