

## Uusia antibiootteja jätteistä, TWIN-A



### 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 mikrosysteemitekniikoita.

### Tutkimuksen tulokset

Antibiooteille vastustuskykyisten *Staphylococcus aureus* ja *Pseudomonas aeruginosa*-bakteerien esiintymistä kartoitettiin viidessä jäteveden puhdistusprosessissa, neljällä biokaasulaitoksella ja viidessä kompostointiprosessissa detektoiden *nucA*, *mecA*, *ecfX* ja *gyrB* geenejä reaaliaika-PCR:llä. Molempia bakteereita havaittiin alhaisia määriä jäteveden puhdistusprosesseissa biokaasun tuottoon saakka ja muissa prosesseissa erityisesti alkuvaiheessa. Vaikka geenitasot olivat alhaisia, havaittujen geenien kokonaisuus on huomattava suurien jätemäärien takia. *S. aureuksen* biofilmien poly-*N*-asetyyli-glukosamiinia (PNAG) pilkkovia geenejä löytyi 135 genomista, kahdeksan geeniä kaikista genomeista ja yhdeksän osasta genomeja. Geenin fylogeniapuihin muodostui useita haaroja, mikä osoittaa PNAG:ia pilkkovien entsyymien geenien suuren monimuotoisuuden. Geenien ilmentymisvaiheiden kartoitukseen biofilmin elinkaaren eri vaiheissa käytämme parhaillaan mRNA:n sekvensointia.

Käytämme myös toisiaan täydentäviä menetelmiä, kun tutkimme jätettä uusien antimikrobiaineiden lähteenä, bakteeribiofilmien tunnistamista ja niiden hajottamista. Tätä tarkoitusta varten kehitettävien biosensorien suunnitteluun tarvitaan räätälöityjä pintamateriaaleja, joilla biofilmien kasvu on suotuisaa, taattua ja turvallista. Nämä ominaisuudet voivat parantaa valmistettavien biosensorin herkkyyttä. Olemme onnistuneet tunnistamaan ja kuvaamaan useita materiaaleja biofilmien kasvattamiseksi sekä

optimoimaan erilaisia mikrobiologisia määrittä- ja tunnistusmenetelmiä stafylokokkien ja pseudomonas-bakteerien muodostamien biofilmiä muodostavien bakteerien tutkimiseen. Nämä materiaalit näyttävät edistävän biofilmiä muodostavien bakteerien kiinnittymistä niistä valmistettuihin pintoihin ja edistävän biofilmimassan tuottoa sekä helpottavan biofilmiä hajottavien aineiden tunnistamista biosensorien avulla. Kunnianhimoisena aikomuksemme on yhdistää nämä materiaalit biosensoreihin ja siirtyä tutkimaan aitoja jätevesinäytteitä uusien tauteja aiheuttavien bakteerien vastaisten aineiden löytämiseksi.

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 kestävämmän jätevesilietteen olosuhteita, jotta mikrobeja voidaan eristämisen jälkeen viljellä aidossa ympäristössä. Hankkeessa kehitetty mikrosiru koostuu ruostumattomasta teräksestä valmistetusta kehyksestä ja polymeeripohjaisesta kuoppalevystä, jonka kuopat täytetään mikrobeja sisältävällä agarilla ja eristetään puoliläpäisevällä, huokoisella kalvolla. Kalvon tarkoituksena on eristää mikrobeja karkaamasta kuopista lietteeseen ja toisaalta mahdollistaa keskeisten ravinteiden pääsy lietteestä bakteeriviljelyyn. Konsepti perustuu aiemmin julkaistuun työhön, jota tässä hankkeessa on kehitetty edelleen. Erityistä huomiota on kiinnitetty materiaalien valintaan mm. bioyhteensopivuuden ja tiiviiden näkökulmasta, mikrobien eristämisen tehokkuuteen sekä eristettyjen mikrobien optisen tarkastelun tehostamiseen optisten mikrolinssien avulla. Mikrosirua käytetään jäteveden puhdistusprosessista kerättyjen aitojen näytteiden tutkimiseen.

Lisäksi olemme kehittäneet taipuisia, painettavia biofilmisensoreita biofilmejä hajottavien yhdisteiden löytämiseksi jätteenkäsittelylaitoksissa. Olemme kehittäneet kolmea erityyppistä sensoria: 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) biofilmiä aktiivisuuden seurannan. Parhaat tulokset saavutettiin EISS-sensoreilla. Näillä sensoreilla pystyttiin seuraamaan biofilmiä

kasvua, ja mikä tärkeintä, myös erottamaan kuolleet biofilmit elävistä antibioottikäsittelyn jälkeen. Seuraava vaihe on jatkaa näiden lupaavimpien EISS-systeemien kehitystä ja optimointia sekä testata sensorien toimivuutta monimutkaisemmillä näytteillä, kuten jätevesinäytteillä.

**Lisätietoja:**

- professori Jari Yli-Kauhaluoma, Helsingin yliopisto, [jari.yli-kauhaluoma@helsinki.fi](mailto:jari.yli-kauhaluoma@helsinki.fi)
- dosentti Merja Kontro, Helsingin yliopisto, [merja.kontro@helsinki.fi](mailto:merja.kontro@helsinki.fi)
- professori Jouko Peltonen, Åbo Akademi, [jouko.peltonen@abo.fi](mailto:jouko.peltonen@abo.fi)