



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Szent István Campus

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

Gyógyszermaradványok (diklofenák, ibuprofen és karbamazepin), mint
mikroszennyező anyagok biológiai lebontására képes mikroorganizmusok
beazonosítása „omikai” módszerekkel

DOI: 10.54598/006660

Pápai Márton

Gödöllő

2025

A doktori iskola

Megnevezése: Környezettudományi Doktori Iskola

Tudományága: Környezettudomány

Vezetője: Csákiné Dr. Michéli Erika
Tanszékvezető egyetemi tanár
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Környezettudományi Intézet

Témavezetők: Dr. Táncsics András
Tanszékvezető egyetemi tanár
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet

Dr. Benedek Tibor
Kutatási és Termelési vezető
Plazmontech Kft.

.....

Iskola vezető jóváhagyása

.....

.....

Témavezetők jóváhagyása

Tartalom

1. Munka előzményei, célkitűzések.....	4
2. Anyag és módszer	5
2.1 Biofilm minta és a mintavétel körülményei	5
2.2 Bontó baktériumok szelektív dúsítása a gyógyszerhatóanyagok jelenlétében.....	5
2.3 Az izolált baktériumtörzsek beazonosítása 16 S rRNS alapján	6
2.4 HPLC mérések a bontási arány meghatározása érdekében	6
2.5 A bakteriális konzorcium kialakítása és eltérő közegekben való tesztelése	7
2.6 Új baktériumfaj leírásához szükséges vizsgálatok.....	8
2.7 A <i>Stenotrophomonas humi</i> DIC_5 törzs diklofenák biotranszformációja során keletkező metabolit meghatározása és toxicitás vizsgálata	8
3. Eredmények és azok megbeszélése.....	10
3.1 A biofilm szelektív dúsítása során zajló populáció dinamika változások a bakteriális közösségben	10
3.2 A dúsított kultúrák baktériumdiverzitása a tenyésztésfüggő megközelítés alapján.....	11
3.3 Gyógyszerhatóanyag biodegradációjára képes izolátumok kiszűrése HPLC méréssel	12
3.4 A kialakított bakteriális konzorcium gyógyszerhatóanyag-bontó képességének tesztelési eredményei különböző vizes közegekben	13
3.5 A <i>Nocardioides carbamazepini</i> CBZ_1 ^T új baktériumfaj leírása	14
3.6 A bakteriális konzorcium egyik tagja, a <i>Stenotrophomonas humi</i> DIC_5 izolátom biotranszformációs metabolitja és annak ökotoxicitás vizsgálatai	15
4. Következtetések és a javaslatok	16
5. Új tudományos eredmények	19
6. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk.....	22

1. Munka előzményei, célkitűzések

Az antropogén tevékenységből a környezetbe kerülő káros anyagok, mind az emberi egészségre, mind pedig a vízi ökoszisztémákra káros hatással vannak. Az édesvíz ökológiai rendszerébe egyre nagyobb koncentrációban kimutatott szennyezőanyagok az emberiség legnagyobb és legégetőbb környezeti problémái közé tartoznak. A környezetben is jelenlévő feltörekvő szerves szennyezőanyagok csoportjába a gyógyászatilag aktív vegyületek (PhACs) is beletartoznak. Az ezredfordulót követően egyre nagyobb figyelem kíséri a gyógyszermaradványok vízi környezetben való előfordulását, környezeti hatásukat és a potenciális toxicitásukat. A gyógyszermaradványok legnagyobb mennyiségben a kommunális szennyvíztelepek, a kórházi és az ipari gyártási folyamatok szennyvizeiből származnak. Mivel a mai szennyvíztisztítási eljárások nem elegendőek és alkalmatlanok ezen vegyületek eltávolítására. Nem áll rendelkezésünkre elég információ a gyógyszerhatóanyagok lehetséges hosszú távú természeti- és közegészségügyi hatásairól. Emiatt elengedhetetlen a környezetben található gyógyszermaradványok mikrobiológiájának, biotranszformációjának és biodegradációjának a megértése. Fontos továbbá a végső környezeti sorsuk pontos meghatározása, a kockázatbecslések elvégzése, fenntartható innovatív módszerek kidolgozása a gyorsabb eltávolítás érdekében. Ennek megfelelően célul tűzttem ki:

- egy előzőleg már széleskörben vizsgált bakteriális biofilmből szelektíven felszaporítani, potenciálisan a diklofenák, ibuprofen és karbamazepin bontására képes autochton baktériumtörzsek izolálása és azonosítása.
- a baktériumtörzsek gyógyszerhatóanyag biodegradációjának további tesztelése.
- a leghatékonyabb gyógyszerhatóanyagbontó baktériumtörzsekből egy bakteriális konzorcium kialakítása, mely tesztelésre került természetes vízmintában és szennyvíz effluensben egyaránt.

2. Anyag és módszer

Célkitűzéseimnek megfelelően hajtottam végre a kísérleteket. Előzőleg egy részletesen beazonosított bakteriális biofilmből szelektív dúsítás során felszaporítottam potenciális gyógyszerhatóanyag-bontó mikroorganizmusokat. A diklofenák, ibuprofen és karbamazepin lebontásában szerepet játszó mikroorganizmusok dúsítása, izolálása és fajsztű azonosítása lett elvégezve, valamint egy olyan bakteriális törzsgyűjtemény létrehozása, amely képes a három vizsgált gyógyszerhatóanyag potenciális lebontására. Azonosított izolátumokból egy bakteriális konzorcium lett kialakítva, amelyet természetes vízmintában és szennyvíz effluensben lett vizsgálva. A fenti célok eléréséhez tenyésztésalapú mikrobiológiai módszereket, valamint tenyésztéstől független molekuláris biológiai technikákat alkalmaztam, és a gyógyszerhatóanyagok biodegradációs mértékét nagyműszeres analitikai eljárásokkal határoztam meg.

2.1 Biofilm minta és a mintavétel körülményei

A vizsgálatok alapját képező bakteriális biofilm filogenetikai és funkcionális tekintetben nagy diverzitással jellemezhető, egyszerű- (BTEX) és policiklusos aromás szénhidrogének (naftalin) biológiai lebontására képes baktériumok izolálási forrásának bizonyult korábban (Benedek et al., 2016; 2018).

Feltételezhető volt, hogy a magas filogenetikai és funkcionális diverzitással rendelkező biofilmben olyan baktériumok is jelen lehetnek, amelyek képesek lebontani a hasonló aromás gyűrűs vegyületeket, mint a diklofenák, ibuprofen és karbamazepin.

A biofilm mintákat 2019 decemberében gyűjtöttük Magyarország központi régiójából, egy gázolajjal szennyezett talajvizet kezelő Pump & Treat rendszer BUT-1 kutjából, 50 ml-es sterilizált csövekbe. A mintavételt követően a biofilm mintákat jégen tároltam, majd a laboratóriumba történő beérkezést követően feldolgoztam őket.

2.2 Bontó baktériumok szelektív dúsítása a gyógyszerhatóanyagok jelenlétében

A gyógyszerhatóanyag-bontó baktériumok szelektív felszaporításához vitaminokkal kiegészített ásványi tápoldatot alkalmaztam (100 ml), amelyek egyedüli szén- és

energiaforrásként diklofenákot (DIC), ibuprofent (IBU) vagy karbamazepint (CBZ) tartalmaztak (100 mg/l). A három párhuzamos dúsító tenyészetet 1-1 ml biofilm szuszpenzióval oltottam be. A szelektív dúsítás három hónapon át tartott (145 rpm, 25°C), és minden hónap végén 10 ml dúsított tenyészetet friss dúsító tápoldatba (90 ml) átoltottam. Továbbá, a dúsító tenyészetekből minden hónap végén hígítási sorokat készítettem, és a hígítási sorok egyes tagjaiból 100 µl-t R2A agar (proteáz pepton 0.5 g; kazamínosavak 0.5 g; élesztőkivonat 0.5 g; dextróz 0.5 g; oldható keményítő 0.5 g; dikálium-foszfát 0.3 g; magnézium-szulfát 7H₂O 0.05 g; nátrium-piruvát 0.3 g; agar 15 g; pH 7) lemezekre helyeztem a baktériumok izolálásának céljából. A ráoltás után a Petri-csészéket 28 °C-on 48 órán keresztül inkubáltam. A kinövő, eltérő morfológiájú telepeket tisztító szélesztéses technikával tisztítottam. A hosszabb távú megőrzés érdekében a tisztított törzseket - 80 °C-ra raktam el glicerin-R2A oldatban (30% v/v).

2.3 Az izolált baktériumtörzsek beazonosítása 16S rRNS alapján

Az izolátumok genomi DNS-ét első lépésben a DNeasy® UltraClean® Microbial DNA Isolation Kit (Qiagen, Németország) segítségével lett kivonva. A következő lépésben a baktériumfajokra specifikus 16S rRNS géneket PCR útján amplifikáltam. A PCR amplikonokat NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Németország) készlettel tisztítottam. A kapott 16S rRNS gének nukleotid szekvenciáit Sanger-szekvenálással határoztam meg BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies, USA) segítségével. A szekvenciákat ABI 3130 Genetic Analyzer-vel (Life Technologies, USA) lett kielemezve. Az eredményül kapott szekvenciák elektroferogramjait MEGA 11 szoftver értékelte ki, majd homológia BLAST-olás lett elvégezve a GenBank adatbázisában. A szekvenálás során hozzávetőlegesen 1500 bázispárnyi leolvasott 16S rRNS szakaszok alapján a prokarióta mikrobák beazonosíthatóak, akár fajszinten is.

2.4 HPLC mérések a bontási arány meghatározása érdekében

Diklofenák, ibuprofen és karbamazepin koncentrációk mellett (1.5 mg/l) az ásványi tápoldatokat (50 mL) 50 µl OD₆₀₀ = 1 optikai denzitású baktérium szuszpenziókkal oltottam be. Kometabolikus bontási kísérletek is lettek végezve, melyek a gyógyszerhatóanyagok

mellett könnyebben metabolizálható szén- és energiaforrásokat is tartalmaztak, úgymint élesztőkivonat (0.05 g/l vagy 0.3 g/l), glükóz (0.5 g/l vagy 3 g/l), nátrium-acetát (0.8 g/l) vagy nátrium-citrát (0.8 g/l). A bontási kísérleteket három párhuzamosban végeztem abiotikus kontroll minták kíséretében. A tesztoldatot 0.45 µm-es cellulóz-acetát (Whatman) szűrőn HPLC fiolákba átszűrtem és direkt lett mérve Chromaster Hitachi HPLC készülékkel Ascentis C18-as oszlopon (150 x 0.46 mm) 0.02 M KH_2PO_4 -acetonitrilt használva oldószerként izokratikus elúcióval (0:50%, v/v; 0.9 ml min⁻¹). A vegyületek detektálásához diódasoros detektort használtam. A diklofenák 202 nm, az ibuprofen 196 nm, és a karbamazepin 214 nm-en lett detektálva.

2.5 A bakteriális konzorcium kialakítása és eltérő közegekben való tesztelése

A bontási kísérletek eredményei alapján kiválogatásra kerültek azok a baktériumtörzsek, illetve körülmények, amelyek esetében laboratóriumi vizsgálatok során a konzorcium a legnagyobb hatékonysággal bontotta a cél gyógyszerhatóanyagokat. A baktériumkonzorcium sikerességének érdekében számos együtt tenyésztéshez szükséges vizsgálat lett elvégezve, mint például: keresztcsíkozás; agar diffúziós lyukteszt; ideális hőmérséklet, tápközeg, pH és sókoncentráció meghatározása. A további bontási kísérletek során ezeket a körülményeket alakítottuk ki a konzorcium számára.

Három eltérő közegben valósultak meg a bontási kísérletek úgy, mint Bushnell-Haas ásványi tápoldatban, természetes vízmintában (Rákospatak), illetve egy szennyvíz effluensben. A tápközegek 1:1:1 arányban diklofenákkal, ibuprofennel és karbamazepinnel (1.5-1.5 mg/l) lettek kiegészítve. Számos beállításban a kiinduló tesztoldatot élesztőkivonattal, (0.3 g/l), glükózzal (3.0 g/l) és néhány esetben nátrium-acetáttal (1.0 g/l) egészítettem ki. A tesztoldatokat 100 µl OD₆₀₀ = 1 optikai denzitású baktériumszuszpenzióval oltottam be, amely 1:1 arányban tartalmazta a vizsgált baktériumtörzseket. A vizsgálatokat 3 párhuzamosban végeztem, abiotikus kontrollokat is beállítottam, mely a baktérium szuszpenzió kivételével az összes fent említett vegyületet tartalmazta. A 4 héten keresztül tartó inkubálás során heti rendszerességgel történt mintavétel az oldatokból. Vizsgálatokhoz a természetes vízmintát a Rákospatak Gödöllő, Alsóparki szakaszán vettem 2022.03.16.-án, míg a szennyvíz effluent a Gödöllői Szennyvíztelep kifolyó, tisztított szennyvize adta, ahol

a mintavétel 2022.08.15.-én történt. A szennyvíz effluens általános fiziko-kémiai paramétereit a Wessling Hungary Kft. határozta meg szabványosított módszerek alapján. A vizsgálat során a gyógyszerhatóanyagok koncentrációváltozásának nyomonkövetésére nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát használtam (HPLC). A 3 gyógyszerhatóanyag koncentrációjának nyomonkövetése HPLC készülékkel történt.

2.6 Új baktériumfaj leírásához szükséges vizsgálatok

A dúsítás során sikerült a tudomány számára még ismeretlen baktériumfajt is tenyésztésbe vonni. A fajleíráshoz szükséges vizsgálatok az alábbiak: baktériumtörzs izolálás, jellemzés; 16S rRNS gén szekvenálás, filogenetikai elemzések; filogenetikai fa rekonstrukciók; pángenomikai vizsgálat; morfológiai, fiziológiai és biokémiai vizsgálatok (Barrow & Feltham, 2003); kemotaxonómiai elemzések (Schumann, 2011); teljes genom szekvenálás; törzs gyógyszerhatóanyag-bontó képességének a vizsgálata. Ezeket mind a szakirodalomban fellelhető módon végeztem el (Cui et al., 2024).

2.7 A *Stenotrophomonas humi* DIC_5 törzs diklofenák biotranszformációja során keletkező metabolit meghatározása és toxicitás vizsgálata

A bakteriális konzorcium egyik tagját, a *Stenotrophomonas humi* DIC_5 törzset külön egy részletesebb bontási kísérletnek is alávettem, mely során kíváncsi voltam a keletkező metabolitra és annak toxikus hatására.

A mintavételezés menete két héten keresztül zajlott, mely során minden nap két mintát vettem 8 órás különbséggel. Egy minta 2 ml folyadékot tartalmazott, melyet a törzsoldatból vettem ki egy orvosi fecskendő segítségével és nylon fecskendőszűrővel (0.22 µm) szűrtem (AIWSCI Corporation; Kína). A vizsgálatban a diklofenák metabolitok azonosítására és szerkezetének tisztázására HPLC-Q-TOF-MS-t, míg a további megerősítésére UHPLC-TQ-MS-t alkalmaztam. A nagy felbontású vizsgálatokhoz egy Agilent 1100 HPLC (USA) rendszer állt a rendelkezésemre, amely bináris oldószer adagoló rendszerrel és automatikus mintavevővel volt felszerelve. Az elválasztás Phenomenex Kinetec 2.6 µm, C18, 150 x 4.6 mm-es kromatográfiás oszlopon történt. Az injektálási térfogat 20 µl volt. Az eluens 0.1%

HCOOH, 5 mM ammónium-formiát volt vízben (A) és MeOH (B), a teljes futási idő 18 perc volt, az áramlási sebesség 0.6 ml/perc.

A diklofenák biotranszformációs végtermékeinek citotoxicitását az ISO 11348-2 (2007) szabvány szerint az akut *Allivibrio fischeri* biolumineszcencia méréssel határoztam meg. A toxicitást a sejtek lumineszcenciájának gátlásával mértem, 30 perces expozíció után. Különös figyelmet fordítottunk a kontroll körülmények ellenőrzésére. A tiszta diklofenák gyógyszerhatóanyagra vonatkozó toxicitást is meghatároztam. A diklofenák 20 mg/ml koncentrációjú törzsoldatát dimetil-szulfoxidban (DMSO, CAS 67-68-5, tisztaság $\geq 99,99\%$, Fisher Scientific, USA) készítettem, majd $1.00\text{E}+02$ mg/L-től $6.25\text{E}+00$ mg/L-ig hígítottam 2 m/m%-os NaCl oldatban, amely 1 v/v% DMSO-t tartalmazott. A biológiai lebomlásból származó mintákat és a diklofenák által okozott gátlást a kiindulási koncentráció százalékos arányában fejeztem ki, amely a kontroll minta lumineszcencia-intenzitásához képest 50%-os csökkenést eredményezett.

A zebradániók tartását és ikragyűjtését a Csenki és munkatársai (2019) által leírtak szerint végeztem. A mikroinjektálást szintén a Csenki és munkatársai (2019) tudományos cikk alapján végeztem el. Az injekciós térfogatok a következők voltak: 75 μm cseppátmérő esetén 0.22 nl, 100 μm esetén 0.52 nl, 150 μm esetén 1.77 nl, 200 μm esetén pedig 4.17 nl, az abiotikus kontroll, biotikus kontroll és DIC_5 minták esetén. Az embriók mortalitását 120 órával a megtermékenyítés után (hpf) állapítottam meg, figyelembe véve a petesejtek koagulációját, a szomita képződés hiányát és a szívműködés állapotát. Ezután 5%-os metilcellulóz oldatot tartalmazó Petri-csészékbe helyeztem át őket. A szubletális tüneteket digitális fényképeken dokumentáltam a lárvákról, oldalirányból, 30x nagyítással sztereomikroszkóp alatt (Leica M205 FA, Leica DFC 7000T kamera és Leica Application Suite X szoftver, Leica Microsystems GmbH, Németország).

3. Eredmények és azok megbeszélése

3.1 A biofilm szelektív dúsítása során zajló populáció dinamika változások a bakteriális közösségben

A kiindulási biofilm baktériumközösségét túlnyomórészt a *Betaproteobacteria* osztály dominálta, amit az *Alpha*-, *Delta*- és *Gammaproteobacteria*, valamint a *Flavobacteriia* követett. A nemzetségek szintjén a legnagyobb számban a *Thauera*, *Bdellovibrio*, *Acidovorax*, *Azoarcus* és *Zoogloa* nemzetségek képviseltették magukat.

A diklofenák dúsítók mindegyikében az *Alpha*-, *Delta*- és *Gammaproteobacteria* osztályok domináltak. Míg a DIC dúsítókban a *Gammaproteobacteria* voltak túlsúlyban, addig az IBU és CBZ dúsítókban a *Betaproteobacteria* osztály képviselői voltak a leggyakoribbak. Ezen kívül az *Actinobacteria* osztály csak az IBU és CBZ dúsításokban vált a közösség jelentős tagjává, 4–14%-os relatív abundanciával.

Nemzetség szinten a DIC-dúsítók baktérium közösségét túlnyomó részben a *Pseudomonas* nemzetség tagjai dominálták, amelyet a *Methyloversatilis*, *Azospirillum*, *Ferrovibrio*, *Rhodanobacter* és *Flavobacterium* nemzetségek követték. Ezzel szemben a *Methyloversatilis* nemzetség tagjai voltak a legdominánsabbak az IBU és a CBZ dúsításokban, míg a *Pseudomonas* nemzetség a második, illetve a harmadik helyen állt a százalékos relatív gyakoriság alapján a két dúsítóban. Szintén az IBU és CBZ dúsító típusok esetén az *Actinobacteria* osztály képviselői, mint a *Nocardioideis*, *Rhodococcus* és *Pseudonocardia* a közösség kulcsfontosságú tagjaivá váltak. Az utolsó két hónapos CBZ dúsítás esetén az *Azospirillum* nemzetség is figyelemre méltó arányt ért el, közel 3.4-4%-os abundanciát.

Azonosításra kerültek azok a baktériumtörzsek is, amelyek $\geq 0.5\%$ -os és legalább 100x-os százalékos relatív abundancia növekedést mutattak legalább az egyik dúsítási kultúrában a kiindulási biofilm baktériumközösségében mért kezdeti értékekhez képest. A DIC-dúsítások esetében a harmadik hónap végére a *Ferrovibrio*, a *Hydrocarboniphaga*, a *Zavarzinia* és a *Sphingopyxis* mutatta a legnagyobb százalékos relatív abundancia változást, ami 1005-, 957-, 811- és 628-szoros növekedést jelentett. Az IBU gyógyszerhatóanyagot tartalmazó dúsítókban a legnagyobb százalékos relatív abundancia növekedést a *Starkeya* (1022-szeres), a *Methylibium* (314-szeres) és egy eddig még tenyésztésbe nem vont, metagenom alapján leírt

SCN 62-11-jelű baktérium (350-szeres) mutatta. Figyelemre méltó, hogy a *Pimelobacter* nemzetség legnagyobb százalékos relatív abundanciája az IBU dúsítókban mindössze 0.18% volt, azonban mégis 1000-szeres növekedést mutatott az IBU dúsítások végére. A CBZ tartalmú dúsítókban az egyik legszembetűnőbb százalékos relatív abundancia növekedés a *Pseudonocardia*, *Sphingopyxis* és a *Rhodococcus* nemzetségek esetében volt tapasztalható, amelyek 505-, 435-, illetve 220-szoros növekedést mutattak a 3. hónap végére.

Meglepő módon a legdominánsabb baktérium nemzetség, mint például a *Pseudomonas*, a *Methyloversatilis* és az *Azospirillum* a dúsítások végére csak 11- és 60-szoros növekedést mutattak a százalékos relatív abundanciában.

3.2 A dúsított kultúrák baktériumdiverzitása a tenyésztésfüggő megközelítés alapján

Összesen 31 baktérium izolátumot sikerült tenyésztésbe vonni, melyek közül 10 izolátum a DIC, 9 az IBU, és 12 a CBZ dúsítóból származott. Osztályszinten az izolátumok a következő csoportokba tartoztak: Gammaproteobaktériumok (14 izolátum), Alphaproteobaktériumok (7), Betaproteobaktériumok (7), Actinobaktériumok (4) és Bacillus (2). Az izolátumok többsége (13 izolátum) a *Pseudomonas* nemzetséghez tartozott (DIC 4, IBU 5, CBZ 4). A *Pseudomonas*-t követően a *Rhizobium* (DIC 3, IBU 2), *Methyloversatilis* (minden dúsítóból 1-1 izolátum), *Nocardioidea* (CBZ 2), *Variovorax* (CBZ 2) és *Bacillus* (IBU 1, CBZ 1) nemzetségek képviselői következtek. Továbbá, egy-egy izolátumot sikerült tenyésztetni a *Stenotrophomonas* (DIC dúsító), *Ancylobacter* (IBU), *Brevundimonas* (CBZ) és *Rhodococcus* (CBZ) nemzetségekből. Az izolátumok többsége Gram (-) baktérium (26 izolátum), míg 5 Gram (+) baktériumot tartalmaztak.

A baktériumizolációk egy baktériumfajt eredményeztek, mely a CBZ dúsítóban született: ez a *Nocardioidea* nemzetségekbe tartozik. Az izolátum 16S rRNS génje a *Nocardioidea* sp. CBZ_1, amely 98%-nál alacsonyabb szekvencia hasonlóságot mutatott a legközelebbi, már tenyésztett rokon 16S rRNS génjével. A CBZ_1^T izolátumot a szerzők nemrégiben a *Nocardioidea* nemzetségen belül egy új leszármazási vonalként írták le, mely a *Nocardioidea carbamazepini* nevet kapta (Benedek et al., 2022).

3.3 Gyógyszerhatóanyag biodegradációjára képes izolátumok kiszűrése HPLC méréssel

A HPLC mérések az alábbi eredményeket igazolták a *S. humi* DIC_5 és az *R. daejeonense* IBU_18 izolátumok gyógyszerhatóanyag-bontó képességét illetően. Négy hét inkubáció után a DIC_5 törzs glükóz (3 g/l) jelenlétében szinte teljes eliminációt mutatott a diklofenák (DCF) esetében ($91 \pm 0.034\%$ -os koncentrációcsökkenés); más beállítási körülmények között nem sikerült magasabb biodegradációs arányt elérni. Ugyancsak négyheti inkubáció után az IBU_18 izolátum mutatta a legmagasabb, $90.7 \pm 0.098\%$ -os eliminációs arányt ibuprofen (IBU) esetén, élesztőkivonat (0.3 g/l) jelenlétében. A karbamazepin (CBZ) bontásában a CBZ_1 izolátum 20%-ot meghaladó bontást mutatott élesztőkivonat (0.3 g/l) jelenlétében, míg a CBZ_3 izolátum szintén élesztőkivonat hozzáadásával $22.9 \pm 0.042\%$ -os bontási hatékonyságot ért el. A 31 tagú törzsgyűjteményben található egyéb potenciális gyógyszerhatóanyag-bontó baktériumtörzsek mindössze 10%-os bontási hatékonyságot értek el.

Az előzőekben kiválasztásra került gyógyszerhatóanyag-bontó izolátumok (DIC_5, IBU_18, CBZ_1 és CBZ_3) optimális tenyésztési körülményeinek a meghatározása is megtörtént. A törzsek későbbi tenyésztéséhez semleges vagy enyhén lúgos R2A táptalaj használható. A kiválasztott törzsek tenyésztésének optimális hőmérséklete $27\text{ }^{\circ}\text{C}$. Az agardiffúziós együttenyésztési kísérlet során nem volt tapasztalható jelentős gátlási terület egyik törzs vizsgálatánál sem. A keresztcsíkozásos módszer során a vizsgált izolátumok között gátló hatást nem lehetett megfigyelni egyik minta esetében sem. Ezen eredmények alapján kijelenthető, hogy sikeres bakteriális konzorcium alakítható ki az alábbi négy baktérium törzsből:

Stenotrophomonas humi DIC_5

Rhizobium daejeonense IBU_18

Nocardioides carbamazepini CBZ_1

Brevundimonas bullata CBZ_3

3.4 A kialakított bakteriális konzorcium gyógyszerhatóanyag-bontó képességének tesztelési eredményei különböző vizes közegekben

Az első tesztoldat egy ásványi sokkal kiegészített steril közeg, amely más mikroorganizmust a konzorciumon kívül nem tartalmaz. A vizsgálat során egy hét elteltével az ásványi tápoldatban a konzorcium az ibuprofent 93%-ban, míg a diklofenákot 39%-ban bontotta. A lebontás üteme minden héten nőtt, és a negyedik hét végére a konzorciumban lévő baktériumok a diklofenák 72,6%-át, az ibuprofen teljes mennyiségét (100%-át), valamint a karbamazepin 30,6%-át bontották. Az ibuprofen esetében már a harmadik hét végére teljes mértékben eltűnt, míg a karbamazepinnél a koncentráció jelentős csökkenése a harmadik és negyedik hét során volt megfigyelhető. Az abiotikus kontrolloknál nem történt számottevő csökkenés a gyógyszerhatóanyag koncentrációjában.

A második tesztoldat egy természetes vízforrásból (Rákospatak) vett minta, amely nem lett szűrve a felhasználása során. Az egyes gyógyszerhatóanyagok lebontásának elemzése során a negyedik hét végére a diklofenák koncentrációja 51,1%-kal csökkent glükóz/élesztőkoncentrációját jelenlétében, míg glükóz/élesztőkoncentrációját/ammónium-nitrát keverékével közel 86%-os bontási eredményt ért el. Az ibuprofen esetében a glükóz/élesztőkoncentrációját tartalmú oldatban a diklofenákhoz hasonlóan 50,9%-os koncentrációcsökkenés volt tapasztalható. Azonban amikor az oldatot ammónium-nitráttal egészítették ki, az ibuprofen két hét alatt teljesen eltűnt a tesztközegekből. A karbamazepin molekulaszervezete jelentős ellenállást mutat a biodegradációval szemben, ami a kísérletek során is jól látható volt. Ennek megfelelően a karbamazepin bomlása a különböző beállításoknál alacsony szinten maradt. A konzorcium, függetlenül a tesztoldat típusától, 25%-os bontási eredményeket ért el természetes vízmintákban, 1,5 mg/l kezdeti koncentráció mellett. A különböző beállítások alkalmazásakor, természetes vízmintában, a kialakított konzorcium az autochton baktériumközösség jelenlétében is jól bontotta a diklofenákot és az ibuprofent, bizonyos beállításoknál, míg a karbamazepin koncentrációcsökkenését enyhe mértékben sikerült detektálni.

Az utolsó esetben egy szennyvíz effluens adta a tesztoldat alapját, amely szintén nem lett szűrve, szintén jelen van a kísérlet során az autochton baktériumközösség is. Az

élesztőkivonatot és glükózt tartalmazó mintákban az ibuprofen bontása volt a legnagyobb mértékű, ugyanakkor a konzorcium jelenlétében a diklofenák bontása is megfigyelhető volt. A négyhetes inkubációs időszak végére, a szennyvíz kifolyó vizébe oltott konzorciummal 76,2%-os ibuprofen bontást mértem. Ugyanebben a mintában a diklofenák kezdeti intenzív koncentrációcsökkenését stagnálás követte a vizsgálat második felében, így végül 38,2%-os bontási eredményt mutatott a negyedik hét végére. A jelenség mögött valószínűleg a szennyvízben található egyéb szénforrások állhatnak, amelyek könnyebben hozzáférhetőek, így zavarhatják a diklofenák bontását. Az élesztőkivonatot, glükózt és ammónium-nitrátot tartalmazó szennyvíz effluens mintákban, a konzorcium jelenlétében mind az ibuprofen, mind a diklofenák koncentrációcsökkenése megfigyelhető volt. Ebben a beállításban az ibuprofen 79,3%-os csökkenést mutatott a vizsgálat végére, míg a diklofenák 30,85%-os bontást ért el ugyanebben a környezetben. Az eredmények összefoglalásaként megállapítható, hogy a konzorcium a szennyvíz effluensben a diklofenák és az ibuprofen bontásában a leghatékonyabb, különösen az élesztőkivonatot, glükózt és ammónium-nitrátot tartalmazó beállításban, ahol közel 80%-os ibuprofen és 30%-os diklofenák bontást figyeltünk meg. A harmadik gyógyszerhatóanyag, a karbamazepin esetében viszont nem volt jelentős koncentrációváltozás tapasztalható egyik beállítás esetén sem.

3.5 A *Nocardioides carbamazepini* CBZ_1^T új baktériumfaj leírása

A kutatási időszak alatt megvalósult a karbamazepin dúsító tenyészetekből izolált CBZ_1-es izolátum, mint új baktériumfaj jelölt fajleírása az érvényben lévő fajleírásokra vonatkozó szakirodalmi követelményeknek megfelelően. Az átfogó filogenetikai, fenotipikai és biokémiai vizsgálatok alapján az új fajjelölt a *Nocardioides* nemzetségbe tartozik és a *Nocardioides carbamazepini* nevet kapta. Bioinformatikai módszerek segítségével beazonosítottuk azokat a géneket, amelyek a *Nocardioides* fajok közül kizárólag az új *Nocardioides* fajban található meg. A CBZ_1-es izolátum jó ibuprofen bontó képességgel rendelkezik. A fajleírásra vonatkozóan bővebb információ Benedek és munkatársai (2022) publikációjában találhatóak meg.

3.6 A bakteriális konzorcium egyik tagja, a *Stenotrophomonas humi* DIC_5 izolátum biotranszformációs metabolitja és annak ökototoxicitás vizsgálatai

A nagyfelbontású HPLC eredmények alapján megállapítható, hogy glükóz jelenlétében a *S. humi* DIC_5-ös izolátum a diklofenák kezdeti koncentrációját 75%-kal csökkentette 6 nap alatt. A keletkezett intermedierek közül a nitro-diklofenákot sikerült beazonosítani. A nitro-diklofenák koncentrációja a diklofenák koncentráció csökkenését követően növekedett, és a 6. naptól kezdődően szignifikáns koncentrációemelkedést mutatott. Ezzel szemben az abiotikus mintában a diklofenák koncentrációja nem csökkent. A biomassza vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a diklofenák nem kötődött a sejtfelszínhez, így a koncentráció csökkenése ténylegesen a biológiai átalakulásnak és lebontásnak köszönhető.

Az ökotoxikológiai vizsgálatok alapján elmondható, hogy az *A. fisheri* és a zebradánió embrió alapú tesztek szerint a diklofenák biológiai lebontásából származó melléktermékek nem toxikusabbak a tesztorganizmusok számára, mint maga a diklofenák. Az *A. fisheri* ökototoxicitási tesztje alapján a toxicitás szinte azonos értéket mutatott az abiotikus és a baktériumtörzzsel beoltott minták esetén, és nem volt számottevő különbség a toxicitás mértékében.

A zebradánió embrió alapú toxicitási vizsgálatok is azt mutatták, hogy az abiotikus és a *S. humi* DIC-5-ös törzzsel beoltott minták toxicitása között nem volt jelentős eltérés. Ebből következően kijelenthető, hogy a biodegradáció folyamán nem keletkeztek a kiindulási anyagnál toxikusabb bomlástermékek. Az abiotikus mintákkal injektált embriók fenotípusos vizsgálatai alapján a következő elváltozásokat figyeltük meg a kontrollhoz képest: teströvidülés, enyhe perikardiális ödéma, szívfelszívódási zavarok és zárt úszóhólyag.

4. Következtetések és a javaslatok

A jelen vizsgálatok célja a diklofenák, ibuprofen és karbamazepin aktív gyógyszerhatóanyagok biodegradációjára képes baktériumok azonosítása, izolálása és biodegradációs képességük vizsgálata volt a kiinduló biofilmből. A kiinduló biofilm már számos sokoldalú baktériumközösség dúsításának alapjául szolgált (Benedek et al., 2016; 2018; 2020; 2021).

A három gyógyszerhatóanyaggal kiegészített dúsító tenyészetekből egy 31 tagból álló bakteriális törzsgyűjtemény jött létre (10 db DIC, 9 db IBU és 12 db CBZ), amelyben az egyes törzsek potenciálisan képesek lehetnek a diklofenák, ibuprofen vagy karbamazepin lebontására. A bakteriális törzsgyűjtemény azokat a baktérium taxonokat tartalmazza, amelyek a dúsítás során végzett felmérések alapján magas relatív abundanciát, vagy annak növekedését mutatták. Ezen baktériumtörzseket sikeresen tenyésztésbe vonni. A dúsítási időszak alatt két nemzetség, a *Pseudomonas* és a *Methyloversatilis* dominanciája volt megfigyelhető, azonban ezek relatív abundanciájának a növekedése ezen időszak alatt elhanyagolható mértékű volt. A diklofenák dúsítások során az alábbi baktérium nemzetségeket sikeresen azonosítani, amelyek vagy magas relatív abundanciát, vagy kiemelkedő növekedést mutattak a relatív abundanciájukban: *Azospirillum*, *Rhodanobacter* (Navrozidou et al., 2019), *Ferrovibrio*, *Hydrocarboniphaga*, *Zavarzinia*, *Sphingopyxis* (Zhou et al., 2013) és *Prostheobacter*. Az ibuprofen tartalmú dúsítókból a következő nemzetségek voltak jelen: *Starkeya* (Bessa et al., 2017), és a *Rhodococcus*. A karbamazepin dúsító tenyészetekben a legnagyobb relatív abundancia növekedését a *Pseudonocardia*, *Sphingopyxis*, *Rhodococcus* és *Achromobacter* (Liang et al., 2021) nemzetségek mutatták.

A 31 baktérium izolátumból álló, potenciálisan gyógyszerhatóanyagokat biodegradáló törzsgyűjtemény diklofenák, ibuprofen és karbamazepin lebontó képességét is meghatároztam. A bontási képességek feltérképezése után egy bakteriális konzorciumot alakítottam ki, amely mindhárom gyógyszerhatóanyagot képes hatékonyan bontani. A méréseket nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC) műszeres analitikai módszerrel végeztem. Az eredmények azt mutatták, hogy csak kevés izolátum képes a vizsgált gyógyszerhatóanyagok lebontására. Az elvégzett kísérletek alapján a diklofenák

biológiai átalakítására a *Stenotrophomonas humi* DIC_5-ös izolátum volt képes glükóz (3.0 g/l) jelenlétében, két hét inkubáció alatt. A legnagyobb ibuprofen bontást a *Rhodococcus daejeonense* IBU_18-as izolátum produkálta, élesztő kivonattal kiegészített tápoldatban. A legintenzívebb karbamazepin bontást a *Brevundimonas bullata* CBZ_3 és a *Nocardioides carbamazepini* CBZ_1-es izolátumok mutatták glükóz (3.0 g/l) és élesztő (1.0 g/l) kivonat jelenlétében. A szakirodalom is beszámolt arról, hogy a szénforrások energiát biztosíthatnak a sejtek növekedésének támogatásához, elősegítve a mikroszennyező anyagok lebontását (Assiaoui et al., 2017).

Az eltérő tápközegben végzett vizsgálatok eredményei alapján a következő bontási hatékonyságok figyelhetőek meg. BHB ásványi tápoldatban glükóz és élesztőkivonat jelenlétében 72%-os diklofenák, 100%-os ibuprofen és 30%-os karbamazepin biodegradációt tapasztaltunk. A Rákospatak vízmintájában, glükóz, élesztőkivonat és nátrium-acetát hozzáadásával, 86%-os diklofenák, 100%-os ibuprofen és 25%-os karbamazepin bontás volt detektálható. A szennyvíz effluensben, ugyanazon tápanyagokkal kiegészítve, 30%-os diklofenák és 79%-os ibuprofen biodegradációt figyeltünk meg, de jelentős karbamazepin elimináció nem történt, valószínűleg a szennyvízben található egyéb szénforrások miatt, amelyek könnyebben elérhető szén- és energiaforrást biztosítottak, így zavarva a gyógyszerhatóanyagok bontását.

A karbamazepinnel, mint egyedüli szén- és energiaforrással dúsított tenyészetből izolált CBZ_1-es törzs lehetőséget biztosított egy új baktériumfaj leírására. Fenotípusos, kemotaxonómiai, filogenetikai és genomikai elemzések alapján az izolátum új baktériumfajt képvisel, amely a *Nocardioides* nemzetségbe tartozik. Ennek megfelelően az új faj neve *Nocardioides carbamazepini* lett.

A *Stenotrophomonas humi* DIC_5 baktériumtörzs 1,5 mg/L kezdeti koncentrációban képes a diklofenák átalakítására. A szakirodalom is alátámasztja, hogy a *Stenotrophomonas* nemzetség tagjai fontos szerepet játszanak a szennyező anyagok, például a policiklusos aromás szénhidrogének eliminálásában (Ryan et al., 2009), és jelentős szerepet játszanak a nitrogén- és kénkörforgásban, gyakran szoros kapcsolatban állnak a növényekkel, segítve azok növekedését, illetve védelmet biztosít a kórokozók ellen (Heylen et al., 2007). Azonban

a *Stenotrophomonas humi* diklofenák biotranszformációjára ez az első ismert bizonyíték. A folyamat során sikerült azonosítani egy átalakulási terméket, a nitro-diklofenákot, amit tömegspektrometriai módszerekkel lett megerősítve. Egy kutatócsoport azt találta, hogy a szennyvízben jelenlévő ammónium-nitrát kapcsolódik a mikrobiális nitrifikációhoz (Praskova et al., 2011). A vizsgálatok alapján a diklofenák koncentrációjának csökkenése a nitro-diklofenák koncentrációjának növekedésével párhuzamosan zajlott a 7. naptól kezdődően. Az *A. fischeri* és zebradánió embriókkal végzett ökotoxikológiai vizsgálatok szerint a diklofenák és a nitro-diklofenák nem volt toxikus a vizsgált tesztorganizmusokra az alkalmazott koncentrációkban.

5. Új tudományos eredmények

1. Sikerült olyan dúsítási körülményeket létrehozni, melyek alkalmasak voltak az általam használt közegből potenciálisan diklofenák, ibuprofen és karbamazepin biológiai bontására képes baktériumokat felszaporítani, beazonosítani és több esetben izolálni is. Eredményeim az *Environmental Science and Pollution Research* folyóiratban lettek közzéve (Pápai et al., 2023).
2. Meghatározásra kerültek a potenciálisan gyógyszerhatóanyagot bontó izolátumok, melyekből egy bakteriális konzorciumot hoztam létre. Ko-metabolikus szubsztrátok jelenlétében a kifejlesztett bakteriális konzorcium jó hatékonysággal bontotta a diklofenákot és az ibuprofent természetes vízmintában és szennyvíz effluensben egyaránt.
3. Sikerült egy ez idáig ismeretlen *Nocardioidea* nemzetségbe tartozó baktériumfajt izolálni. Az új faj leírásához szükséges nemzetközi előírások alapján végzett vizsgálatok eredményeként megállapítást nyert, hogy a karbamazepinnel módosított szelektív dúsító kultúrából származó, ibuprofen biodegradációjára képes baktériumtörzs egy új faj képviselője a *Nocardioidea* nemzetségen belül, amely a *N. carbamazepini* nevet kapta. Az eredmény a *Systematic and Applied Microbiology* szakfolyóiratban jelent meg (Benedek et al., 2022).
4. A *Stenotrophomonas humi* DIC_5 törzs esetén széleskörűen feltárássra került a diklofenák-bontó képessége, modern nagyműszeres analitikai módszerekkel. Emellett beazonosításra került a biodegradáció egyik köztes terméke, a nitro-diklofenák. Két ökotoxikológiai módszer alkalmazásával pedig megállapításra került, hogy a lebontás során keletkező anyagcseretermékek nem toxikusabbak, mint a kiinduló vegyület. A tudományos eredmény az *Applied Microbiology and Biotechnology* folyóiratban lett közzéve (Pápai et al., 2024).

Irodalmijegyzék

- Aissaoui, S., Ouled-Haddar, H., Sifour, M., Harrouche, K., & Sghaier, H. (2017). Metabolic and co-metabolic transformation of diclofenac by *Enterobacter hormaechei* D15 isolated from activated sludge. *Current microbiology*, 74(3), 381-388.
- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. A. (2003). *Cowan and Steel's Manual for the identification of the medical bacteria* (3rd Edition), Cambridge University Press, Cambridge, U. K.
- Benedek T, Táncsics A, Szabó I, Farkas M, Szoboszlay S, Fábián K, Maróti G, Kriszt B (2016) Polyphasic analysis of an *Azoarcus* *Leptothrix*-dominated bacterial biofilm developed on stainless steel surface in a gasoline-contaminated hypoxic groundwater. *Environ Sci Poll Res* 23: 9019–9035
- Benedek, T., Szentgyörgyi, F., Szabó, I., Kriszt, B., Révész, F., Radó, J., Maróti, G., & Táncsics, A. (2018). Aerobic and oxygen-limited enrichment of BTEX-degrading biofilm bacteria: dominance of *Malikia* versus *Acidovorax* species. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 32178-32195.
- Benedek T, Szentgyörgyi F, Szabó I, Farkas M, Duran R, Kriszt B, Táncsics A. (2020) Aerobic and oxygen-limited naphthalene-amended enrichments induced the dominance of *Pseudomonas* spp. from a groundwater bacterial biofilm. *Appl Microbiol Biotechnol* 104: 6023-6043
- Benedek, T., Szentgyörgyi, F., Gergőcs, V., Menashe, O., Gonzalez, P. A. F., Probst, A. J., Kriszt, B., & Táncsics, A. (2021). Potential of *Variovorax paradoxus* isolate BFB1_13 for bioremediation of BTEX contaminated sites. *AMB Express*, 11, 1-17.
- Benedek, T., Pápai, M., Gharieb, K., Bedics, A., Táncsics, A., Tóth, E., Daood, H., Maróti, G., Wirth, R., Menashe, O., Bóka, K., & Kriszt, B. (2022). *Nocardioides carbamazepini* sp. nov., an ibuprofen degrader isolated from a biofilm bacterial community enriched on carbamazepine. *Systematic and Applied Microbiology*, 45(4), 126339.
- Bessa, V. S., Moreira, I. S., Tiritan, M. E., & Castro, P. M. L. (2017). Enrichment of bacterial strains for the biodegradation of diclofenac and carbamazepine from activated sludge. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 120, 135-142.
- Cui, H. L., Hou, J., Amoozegar, M. A., Dyal-Smith, M. L., de la Haba, R. R., Minegishi, H., Rodriguez, R. M., Oren, A., Porro, C. S., Ventosa, A. & Vreeland, R. H. (2024). Proposed minimal standards for description of new taxa of the class Halobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 74(3), 006290.
- Csenki, Z., Garai, E., Risa, A., Cserhádi, M., Bakos, K., Márton, D., Bokor, Z., kriszt, B., & Urbányi, B. (2019). Biological evaluation of microbial toxin degradation by microinjected zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Chemosphere*, 227, 151-161.

Heylen, K., Vanparys, B., Peirsegeale, F., Lebbe, L., & De Vos, P. (2007). *Stenotrophomonas terrae* sp. nov. and *Stenotrophomonas humi* sp. nov., two nitrate-reducing bacteria isolated from soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57(9), 2056-2061.

Liang, D. H., Hu, Y., Cheng, J., & Chen, Y. (2021). Enhanced performance of sulfamethoxazole degradation using *Achromobacter* sp. JL9 with in-situ generated biogenic manganese oxides. *Bioresource Technology*, 333, 125089.

Navrozidou, E., Remmas, N., Melidis, P., Karpouzas, D. G., Tsiamis, G., & Ntougias, S. (2019). Biodegradation potential and diversity of diclofenac-degrading microbiota in an immobilized cell biofilter. *Processes*, 7(9), 554.

Pápai, M., Benedek, T., Táncsics, A., Bornemann, T. L., Plewka, J., Probst, A. J., Hussein, D., Maróti, G., Menashe, O., Kriszt, B. (2023). Selective enrichment, identification, and isolation of diclofenac, ibuprofen, and carbamazepine degrading bacteria from a groundwater biofilm. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(15), 44518-44535.

Pápai, M., Benedek, T., Sörös, C., Háhn, J., Csenki, Z., Bock, I., Táncsics, A., Kriszt, B. (2024). Biotransformation of diclofenac by *Stenotrophomonas humi* strain DIC_5 and toxicological examination of the resulting metabolites. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 485.

Praskova, E., Voslarova, E., Siroka, Z., Plhalova, L., Macova, S., Marsalek, P., Pistekova, V., & Svobodova, Z. (2011). Assessment of diclofenac LC50 reference values in juvenile and embryonic stages of the zebrafish (*Danio rerio*). *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 14(4), 545–549.

Ryan R. P., Monchy, S. Cardinale M., Taghavi S., Crossman L., Avison M. B., Berg G., Lelie D., & Dow J. M. (2009). The versatility and adaptation of bacteria from the genus *Stenotrophomonas*. *Nature Reviews Microbiology*, 7, pages 514–525.

Schumann, P. (2011). Peptidoglycan structure. In *Methods in microbiology* (Vol. 38, pp. 101-129). Academic Press.

Zhou, N. A., Lutovsky, A. C., Andaker, G. L., Gough, H. L., & Ferguson, J. F. (2013). Cultivation and characterization of bacterial isolates capable of degrading pharmaceutical and personal care products for improved removal in activated sludge wastewater treatment. *Biodegradation*, 24, 813-827.

6. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó publikációk

Tudományos folyóiratokban megjelent, lektorált, teljes szövegű tudományos közlemény:

Benedek, T., **Pápai, M.**, Gharieb, K., Bedics, A., Táncsics, A., Tóth, E., Daood, H., Maróti, G., Wirth, R., Menashe, O., Bóka, K., & Kriszt, B. (2022). *Nocardioides carbamazepini* sp. nov., an ibuprofen degrader isolated from a biofilm bacterial community enriched on carbamazepine. *Systematic and Applied Microbiology*, 45(4), 126339.

IF: 3.4

Pápai, M., Benedek, T., Táncsics, A., Bornemann, T. L., Plewka, J., Probst, A. J., Hussein, D., Maróti, G., Menashe, O., Kriszt, B. (2023). Selective enrichment, identification, and isolation of diclofenac, ibuprofen, and carbamazepine degrading bacteria from a groundwater biofilm. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(15), 44518-44535.

IF: 5.8

Pápai, M., Benedek, T., Sörös, C., Háhn, J., Csenki, Z., Bock, I., Táncsics, A., Kriszt, B. (2024). Biotransformation of diclofenac by *Stenotrophomonas humi* strain DIC_5 and toxicological examination of the resulting metabolites. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 108(1), 485.

IF: 3.9

Kongresszusi kiadványokban megjelent közlemény (az ISBN, ISSN vagy más, hitelesített kiadványaira vonatkozóan):

Pápai, M., Táncsics, A., Hussein, D., Maróti, G., Kriszt, B., Menashe, O., Benedek, T. Screening for diclofenac, ibuprofen and carbamazepine degrading bacteria selectively enriched and isolated from subsurface biofilm- 6th Central European Forum for Microbiology, 2021. 10. 13-15. Abstracts p. 103.

Pápai, M., Táncsics, A., Hussein, D., Maróti, G., Kriszt, B., Menashe, O., Benedek, T., Development of a bacterial consortium for simultaneous diclofenac, ibuprofen and

carbamazepin biodegradation- A Magyar Mikrobiológus Társaság 2022. évi Naggyűlés, Absztrakt füzet p. 40.

Pápai, M., Táncsics, A., Maróti, G., Kriszt, B., Plewka, J., Probst, A. J., Menashe O., Benedek, T. Identification of diclofenac, ibuprofen and carbamazepine degrading bacteria from a groundwater biofilm using shotgun metagenomic sequencing and analysis.- Jahrestagung, Annual Conference, Association for General and Applied Microbiology, 21–23 February 2022. eP185.

Pápai, M., Maróti, G., Wirth, R., Menashe, O., Hussein, D., Táncsics, A., Kriszt, B., Benedek, T. A combined omics approach reveals the role of a *Nocardioides* bacterium in ibuprofen and carbamazepine degradation. 8th European Bioremediation Conference, Chania, Greece June 12-17, 2022. Abstracts

Pápai, M., Táncsics, A., Csépanyi, A., Maróti, G., Kriszt, B., Menashe, O., Benedek, T., Preliminary results on biodegradation of drug residues, 19th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, 2023. 07. 05-07., p. 76.

Pápai, M., Benedek, T., Sörös Cs., Háhn, J., Csenki, Zs., Táncsics, A., Kriszt, B. Biotransformation of diclofenac by *Stenotrophomonas humi* strain DIC_5 and ecotoxicological assessment of the residual metabolites. A Magyar Mikrobiológus Társaság 2024. évi Naggyűlés, Absztrakt füzet p.46.