



Antibiotici i rezistentnost

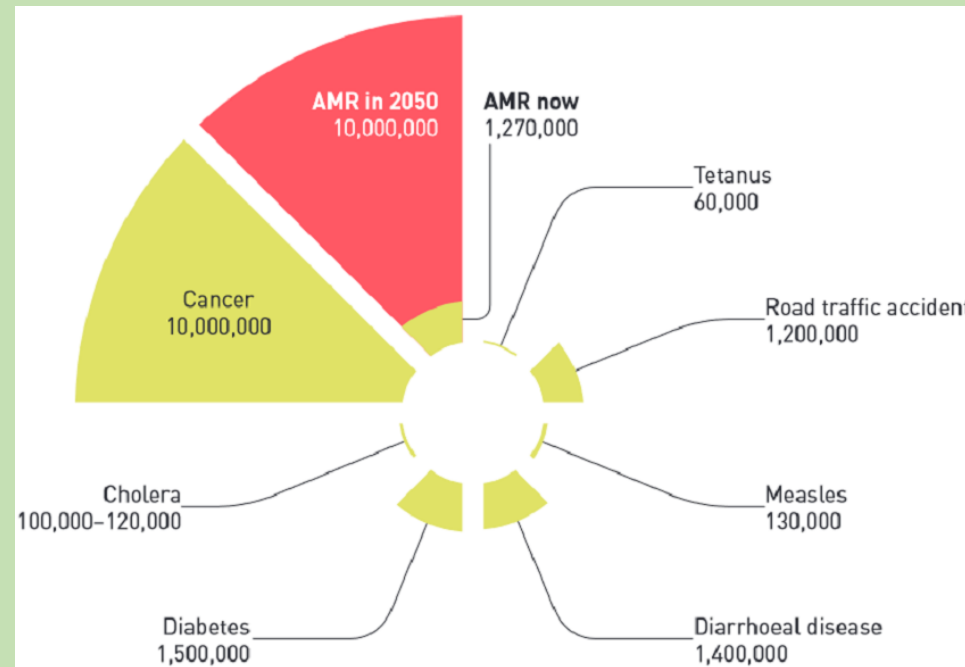
Zašto i kako bakterije postaju otporne na antibiotike?

Otpornost na antibiotike:

- Prekomjerna i zlorporaba antibiotika uzrokovala je pojavu bakterija otpornih na antibiotike.
- Ovo predstavlja značajnu prijetnju javnom zdravlju globalno.

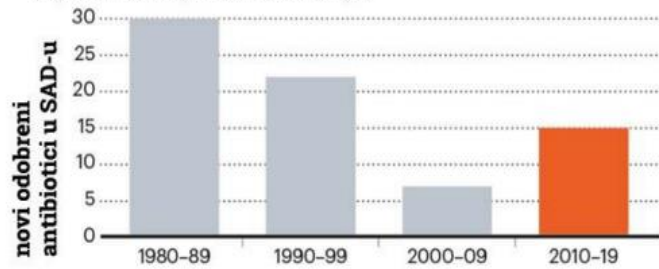
Hitnost problema:

- Svjetska zdravstvena organizacija prepoznala je otpornost na antibiotike kao jedan od vodećih zdravstvenih problema.
- Infekcije postaju sve teže liječiti, a učestale su, poput gonoreje, upale pluća i tuberkuloze.
- Znanstvenici procjenjuju → broj umrlih kao posljedica antimikrobne rezistencije (odnosno posljedica antibiotske, antivirusne, antifungalne i antimalarijske rezistencije) porasti na svjetskoj razini, sa sadašnjih 700 000 na 10 milijuna do 2050.

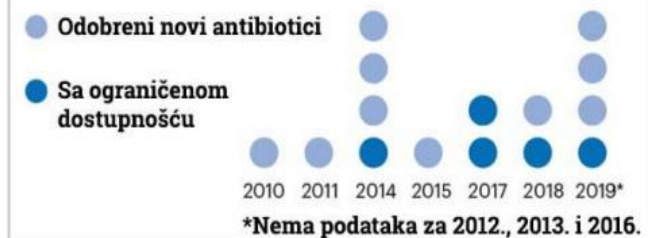


TENDENCIJA PADA ANTIBIOTSKE INDUSTRIJE

U proteklih nekoliko desetljeća broj antibiotika odobreni za uporabu u SAD-u opada kao i u ostatku svijeta



Od 15 novih antibiotika, odobrenih od Agencije SAD-a, za hranu i lijekove u proteklom desetljeću, njih 5 se više ne proizvodi jer su tvrtke koje su ih proizvodile prestale postojati



enature

Zarada?

Nedostatak investicija:

Farmaceutske kompanije ulaze iznimno malo u istraživanje i pronalasku novih antibiotika.

Razlozi uključuju dugotrajnost istraživanja (10-15 godina) i visoke troškove (oko 1.5 milijardu američkih dolara).

Posljedice nedostatka ulaganja:

Nedostatak ulaganja u istraživanje novih antibiotika rezultira smanjenjem dostupnosti učinkovitih lijekova protiv rezistentnih bakterija.

Mnoge male biotehnološke tvrtke propadaju, dok se velike preusmjeravaju na istraživanje drugih lijekova.

Antibiotici

Uloga antibiotika:

- Antibiotici su ključni lijekovi za liječenje bakterijskih infekcija i spašavaju mnoge živote.

Karakteristike antibiotika:

- Mogu biti baktericidni (ubijaju bakterije) ili bakteriostatski (inhibiraju rast bakterija).
- **Selektivna toksičnost** osigurava da su otrovni za bakterije, ali ne i za domaćina.

Vrste antibiotika:

- Prirodni, polusintetski i sintetski spojevi.
- Prvi antibiotik, penicilin, otkriven je 1928. godine.



Antibiotici

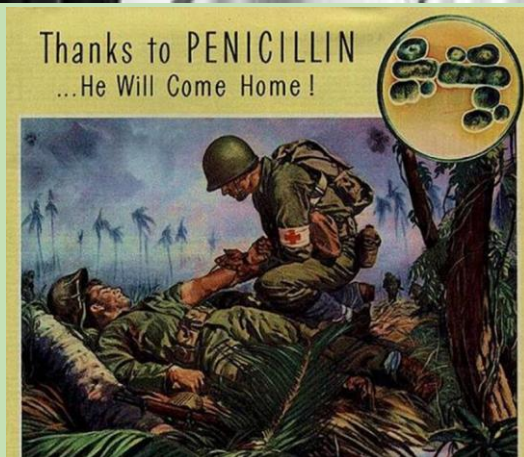


Otkriće penicilina:

- Alexander Fleming primijetio je da plijesan *Penicillium notatum* inhibira rast bakterija *Staphylococcus aureus*.
- Penicilin je prvi antibiotik koji se masovno proizvodio i koristio u kliničkoj praksi.

"Zlatno razdoblje" antibiotika:

- Nakon penicilina, slijedio je period otkrića mnogih drugih antibiotika, posebno u razdoblju između 1950-ih i 1960-ih.



“They knew that of the 10 million soldiers killed in World War I, about half died not from bombs or shrapnel or bullets or gas but rather from untreatable infections from often relatively minor wounds and injuries,”

Mehanizmi djelovanja antibiotika na bakterije

Utjecaj antibiotika na medicinu:

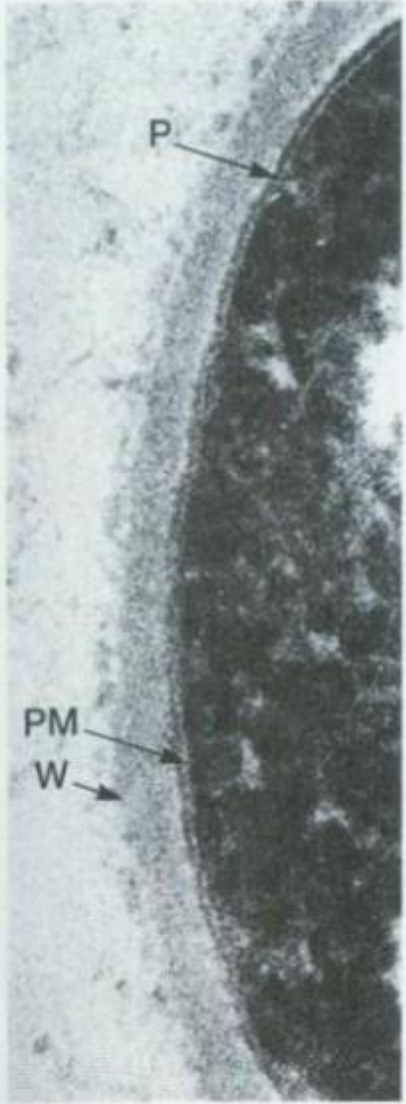
- Prije antibiotika, zarazne bolesti poput velikih boginja i difterije često su bile smrtonosne.
- Antibiotici su dramatično promijenili medicinsku praksu i produljili prosječni životni vijek.

Mehanizmi djelovanja antibiotika:

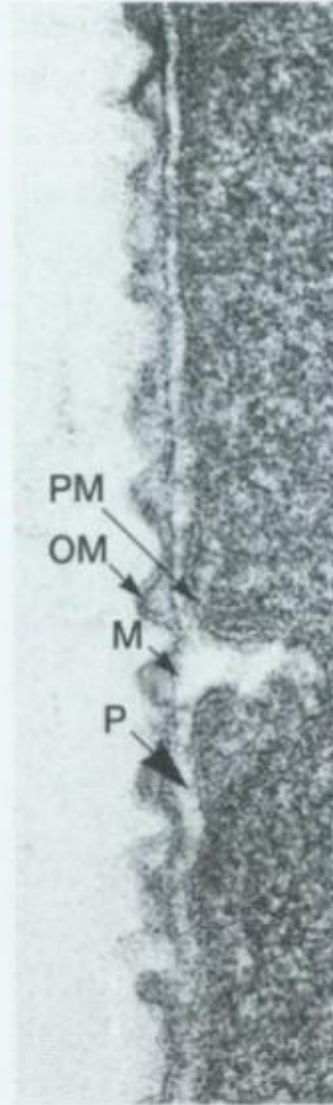
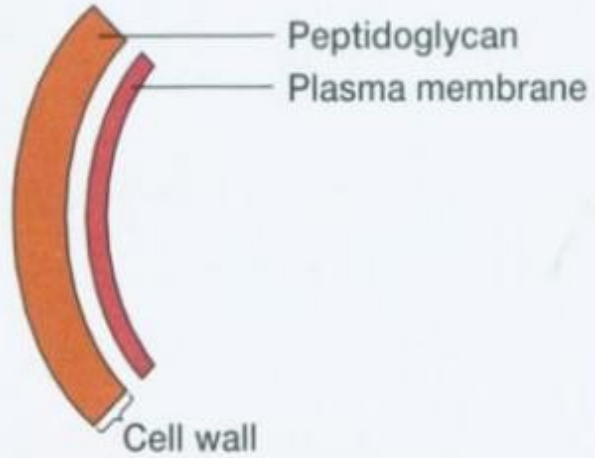
- Antibiotici mogu djelovati na različite procese u bakterijskoj stanici: mogu utjecati na strukturni integritet bakterijske stanice (inhibicija sinteze stanične stijenke i inhibicija funkcije citoplazmatske membrane) ili mogu **prekinuti osnovne metaboličke aktivnosti** (inhibicija sinteze nukleinskih kiselina, proteina i bitnih metabolita).



Gram-pozitivna bakterija

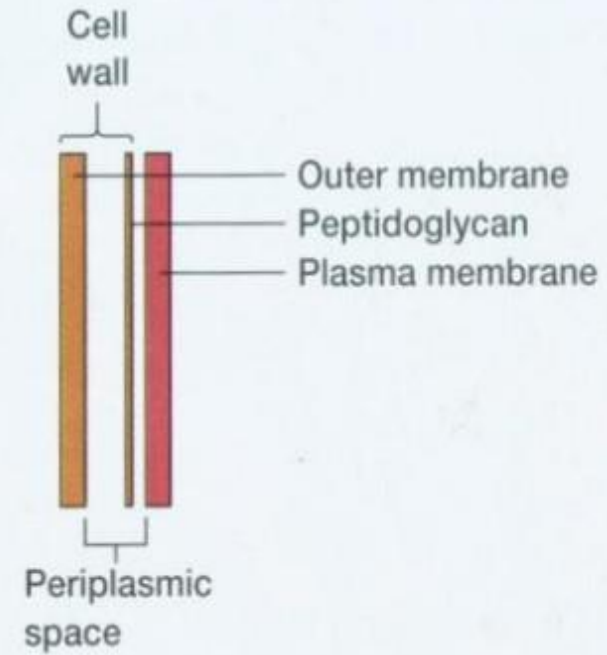


The gram-positive cell wall



Gram-negativna bakterija

The gram-negative cell wall



a) Inhibicija sinteze stanične stijenke

Uloga bakterijske stanične stijenke:

Stanična stijenka pruža bakterijskoj stanici oblik i zaštitu od vanjskih utjecaja poput mehaničkih ozljeda i promjena osmotskog tlaka. Građena je od peptidoglikana, linearnih polisaharidnih lanaca povezanih kratkim peptidima.

Razlike između Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija:

Gram-pozitivne bakterije imaju veći udio mureina u staničnoj stijenci i oboje se bojom kristal violet.

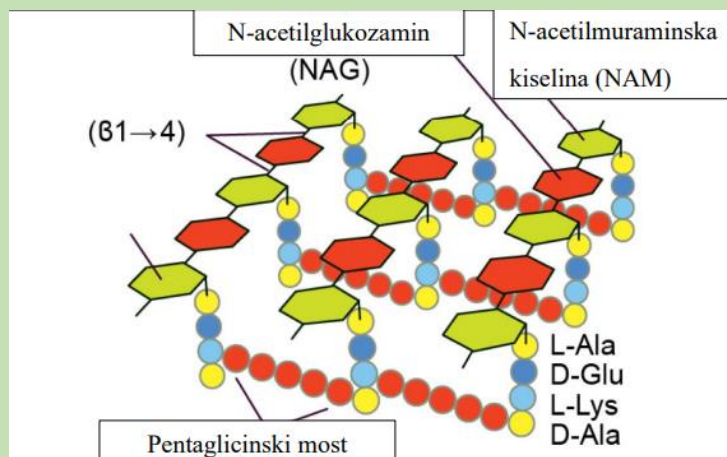
Gram-negativne bakterije imaju manji udio mureina i ne oboje se bojom kristal violet.

Neki mikroorganizmi, poput mikoplazmi, nemaju staničnu stijenkku.

Antibiotici koji inhibiraju sintezu stanične stijenke:

Beta-laktamski antibiotici: Vežu se za proteine koji vežu penicilin (PBP) inhibiraju transpeptidaciju, proces ključan za sintezu stanične stijenke. Beta-laktamski antibiotici postižu baktericidni učinak

Glikopeptidni antibiotici: Primjer je vankomicin, koji se veže za dijelove peptidoglikana i sprječava njihovu sintezu.



Selektivna toksičnost antibiotika:

- Antibiotici koji inhibiraju sintezu stanične stijenke imaju relativno visoku selektivnu toksičnost jer eukariotske stanice ne sadrže peptidoglikan.
- Ovo omogućuje ciljano djelovanje na bakterijske stanice, što je ključno za učinkovitost ovih antibiotika.

b) Inhibicija funkcije stanične membrane

Funkcija bakterijske stanične membrane:

- Stanična membrana okružuje citoplazmu bakterijske stanice.
- Služi kao selektivna permeabilna barijera, obavlja aktivni transport i regulira unutarnji sastav stanice.

Antibiotici koji djeluju na staničnu membranu:

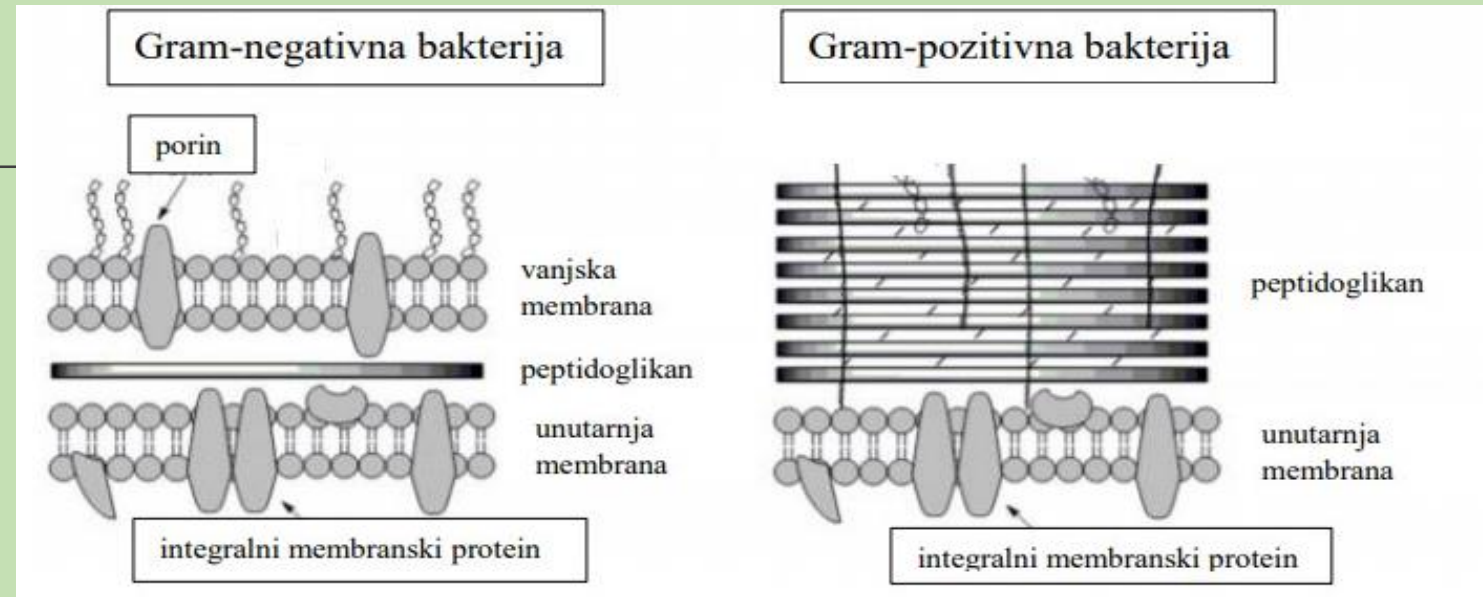
- Ova skupina antibiotika djeluje na različite načine, uključujući narušavanje funkcionalnog integriteta stanične membrane i promjenu njezine permeabilnosti.
- Djelovanje antibiotika usmjereno je na spojeve karakteristične za građu bakterijske stanične membrane.

Primjeri antibiotika:

- Najpoznatiji primjeri su polimiksini koji dovode do povećane propusnosti stanične membrane.
- Ovo može rezultirati oštećenjem ili smrću bakterijske stanice.

Selektivna toksičnost:

- Antibiotici koji inhibiraju funkcije membrane bakterijskih stanica pokazuju visoku selektivnu toksičnost.
- Temelji se na razlici u građi stanične membrane između eukariotskih i prokariotskih stanica.



c) Inhibicija sinteze nukleinskih kiselina

Nukleinske kiseline:

- Nukleinske kiseline su biološke makromolekule sastavljene od nukleotida.
- Osiguravaju pohranu genetičke informacije i njezinu ekspresiju.

Antibiotici koji inhibiraju sintezu nukleinskih kiselina:

- Kinoloni i rifampicin su najpoznatiji antibiotici koji djeluju inhibicijom sinteze nukleinskih kiselina.

Fluorokinoloni:

- Inhibiraju bakterijsku topoisomerasu II (DNA girazu) i topoisomerasu IV.
- Onemogućuju relaksaciju pozitivno zavijene DNA potrebnu za replikaciju i transkripciju.
- Visoke koncentracije fluorokinolona mogu inhibirati topoisomerase u ljudskim stanicama.

Rifampicin:

- Inhibira DNA-ovisnu RNA polimerazu.
- Sprječava sintezu RNA, što dovodi do smrti bakterijske stanice.

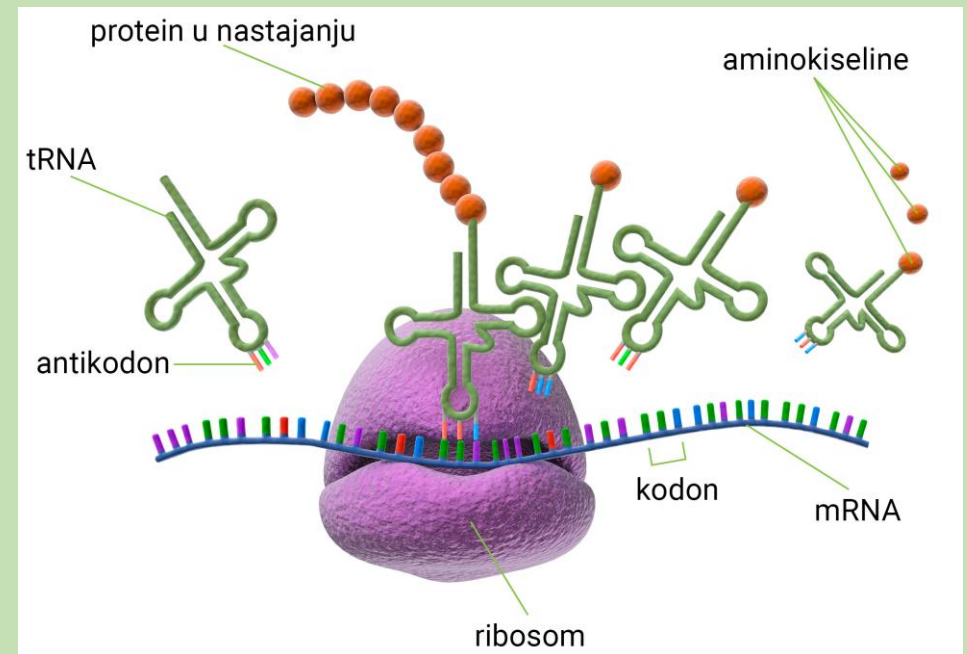
d) Inhibicija sinteze proteina

Proteini:

- Proteini su biološke makromolekule sastavljene od aminokiselina.
- Njihova struktura, funkcija i regulacija važni su za stanice.

Proces translacije:

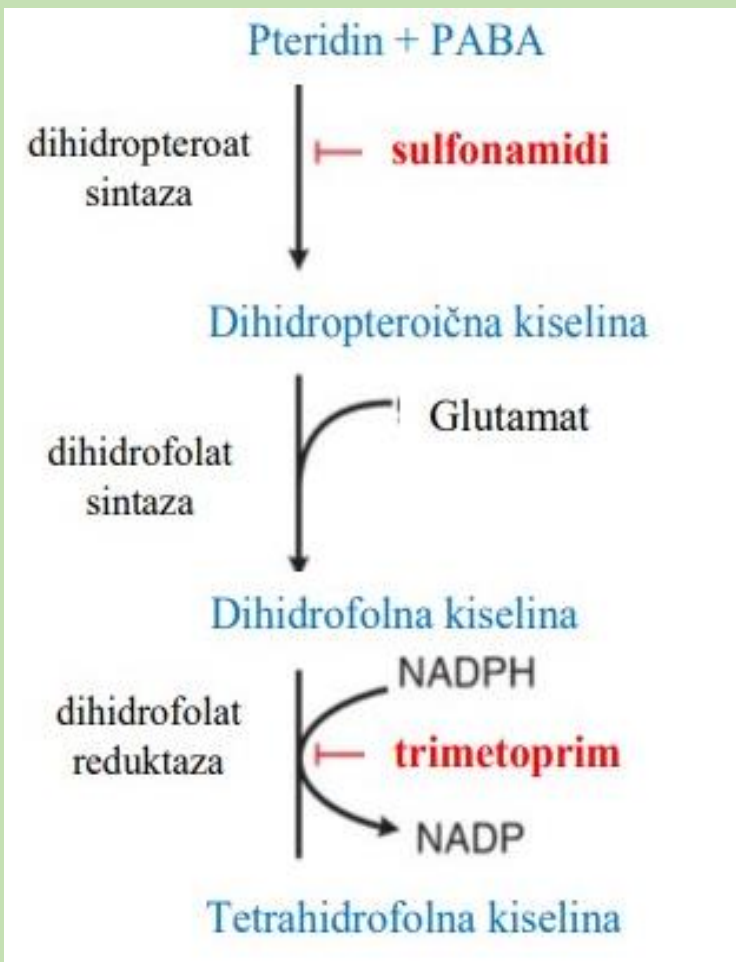
- Proteini nastaju procesom translacije na ribosomima.
- Bakterijski ribosomi sastoje se od 50S i 30S podjedinica.



Antibiotici koji inhibiraju sintezu proteina:

- Aminoglikozidi, tetraciklini, kloramfenikol, makrolidi, streptogramin i linkozamidi djeluju inhibicijom sinteze proteina.
- Aminoglikozidi se vežu na 30S podjedinicu ribosoma i sprječavaju sintezu proteina na različite načine.
- Tetraciklini se također vežu na 30S podjedinicu, blokirajući vezanje aminoacil-tRNA.
- Kloramfenikol inhibira peptidil-transferaznu aktivnost ribosoma na 50S podjedinici.
- Makrolidi sprječavaju translakaciju aminoacila na 50S podjedinici.

e) Inhibicija sinteze važnih metabolita

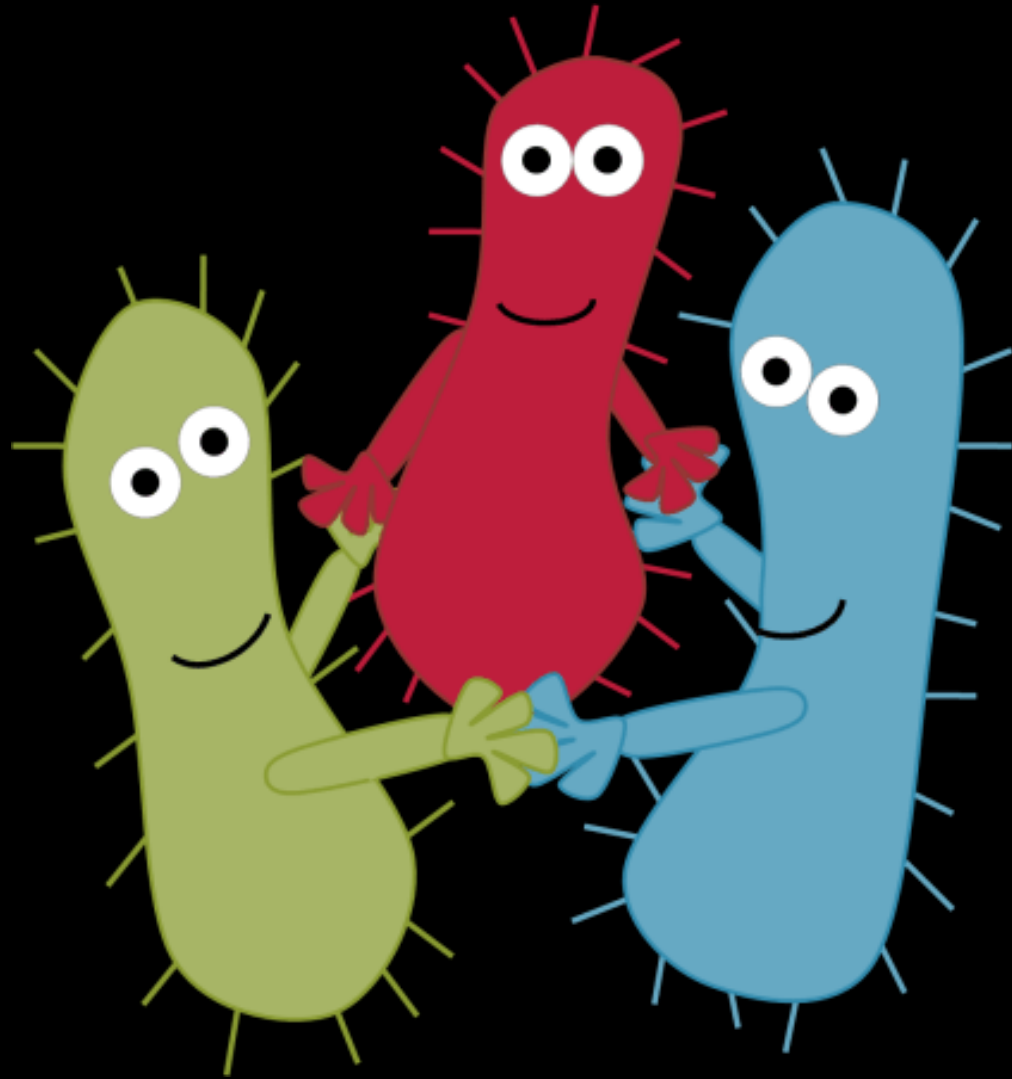


Sulfonamidi i trimetoprim:

- Ova skupina antibiotika inhibira određene korake u metabolizmu folne kiseline.
- Folna kiselina važna je za sintezu bakterijskih nukleinskih kiselina.
- Sulfonamidi se vežu na enzim dihidropteroat sintazu, kompetitivno ga inhibirajući.
- Trimetoprim inhibira bakterijsku dihidrofolat reduktazu.

Sinergistički učinak:

- Istovremena primjena sulfonamida i trimetoprma daje sinergistički učinak.
- Učinak kombinacije ovih antibiotika nadmašuje aditivni učinak pojedinih komponenti.



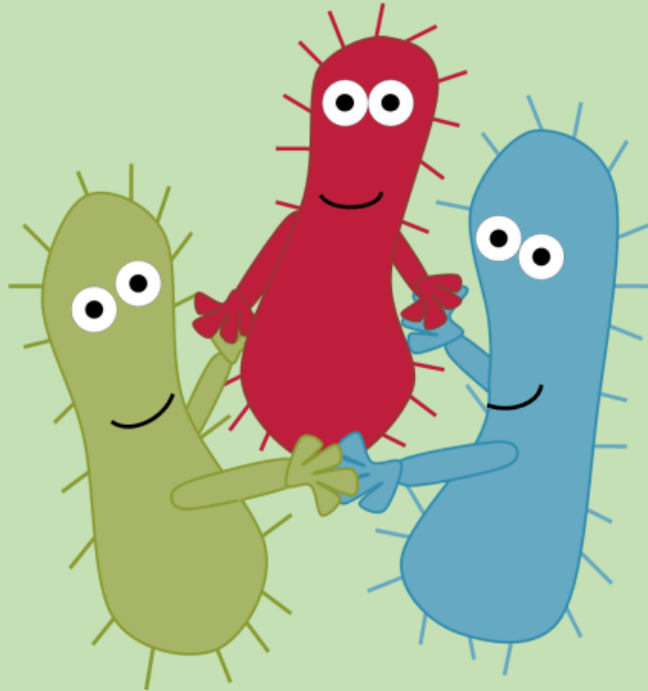
“The time may come when penicillin can be bought by anyone in the shops. Then there is the danger that the ignorant man may easily underdose himself and by exposing his microbes to non-lethal quantities of the drug make them resistant.”

- Alexander Fleming

Quorum sensing

Definicija:

- Kvorum označava minimalan broj članova potrebnih za prihvaćanje odluke.
- Bakterijski kvorum podrazumijeva minimalnu koncentraciju bakterija za zajedničku gensku ekspresiju.



• Quorum sensing:

- To je regulacija genske ekspresije prema gustoći bakterijske populacije.
- Bakterije proizvode i ispuštaju kemijske signalne molekule, tzv. autoinduktore.

• Komunikacija u bakterijskoj zajednici:

- Quorum sensing omogućuje komunikaciju unutar i između bakterijskih vrsta.
- Autoinduktor-2 je univerzalna molekula za komunikaciju između različitih vrsta.

Značaj quorum sensinga:

- Bakterije nisu samotnjački organizmi.
- Quorum sensing je ključan za formiranje biofilmova.
- Biofilmovi su izvor kroničnih i perzistentnih infekcija.

Rezistencija

Definicija:

- Bakterije razvijaju sposobnost preživljavanja izloženosti antibioticima, čineći ih neučinkovitim.
- Faktori koji pridonose rezistenciji uključuju prekomjerno propisivanje antibiotika i nepotpune tijekom liječenja.

Osnova rezistencije:

- Genetska informacija koja se može razviti evolucijom, mutacijama i genskom varijabilnošću.
- Horizontalni prijenos gena omogućava bakterijama stjecanje otpornosti.



Rezistencija

Antibiotički rezistom kao zajednički naziv za sve gene odgovorne za rezistenciju koje pronalazimo u okolišu, a za očekivati je da će se zastupljenost i tip rezistencije mijenjati ovisno o različitim okolišima

Tipovi rezistencije:

- Primarna (urođena) rezistencija: prirodno nasljedno svojstvo nepostojanja ciljnog mjesta za antibiotik.
- Sekundarna (stečena) rezistencija: stjecanje otpornosti nakon izlaganja antibioticima.

Problematika antibiotičke rezistencije:

- Sekundarna rezistencija predstavlja veći problem u suvremenoj medicini.
- Dinamika i tipovi rezistencije ovise o okolišnim uvjetima.

Sekundarna (stečena) rezistencija se javlja kada bakterija koja je bila osjetljiva na antibiotik postane otporna.

- Sekundarna rezistencija se može razviti kao posljedica: mutacije bakterijskog genoma ili horizontalnog prijenosa gena (transformacija, transdukcija i konjugacija).

Rezistencija

- Antibiotička rezistencija je otpornost bakterija na djelovanje antibiotika, tj. njihova sposobnost rasta u prisutnosti antibiotika
- Drugi mikroorganizmi također mogu razviti otpornost na spojeve koji su prvotno imali negativan utjecaj na njihov rast - antimikrobna rezistencija.

Antibiotik	Početak primjene antibiotika	Bakterija otporna na antibiotik	Identifikacija bakterije otporne na antibiotik
Penicilin	1941.	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1942. 1967. 1976.
Vankomicin	1958.	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	1988. 2002.
Meticilin	1960.	<i>Staphylococcus aureus</i>	1960.
Treća generacija cefalosporina	1980. (cefotaksim)	<i>Escherichia coli</i>	1983.
Azitromicin	1980.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2011.
Imipenem	1985.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1996.
Ciprofloksacin	1987.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2007.
Daptomicin	2003.	<i>Staphylococcus aureus</i>	2004.
Ceftazimid/ avibaktam	2015.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2015.

Rezistencija = „moderni fenomen“. No je li doista tako?

- Znanstvenici su 2011. godine proveli istraživanje – analiza uzoraka DNA prikupljenih na području kanadskog Yukona- područja „vječnog leda“ koji potječe iz razdoblja kasnog pleistocena
- Cilj istraživanja bio je ispitati **podrijetlo** antibiotske rezistencije
- Sekvenciranjem bakterijskih genoma utvrđeno je da su bakterije, stare približno 30 000 godina, sadržavale gene za otpornost na β -laktame, tetracikline i glikopeptidne antibiotike.

Adaptacija bakterija:

- Bakterije se prilagođavaju nepovoljnim uvjetima okoliša, uključujući prisutnost antibiotika.
- Geni za otpornost prethodili su ljudskoj upotrebi antibiotika.

Nastanak antibiotske rezistencije:

- Fenomen prirodne selekcije: prisutnost antibiotika postavlja selektivni pritisak.
- Antibiotička rezistencija nije moderni fenomen, već drevni prirodni fenomen.



Definicija mutacije:

Promjena slijeda nukleotida u molekuli DNA.

Može biti inducirana raznim egzogenim, mutagenim čimbenicima ili se može razviti spontano.

Spontane mutacije:

Javljaju se na svakih 10^6 do 10^9 bakterijskih dioba.

Rezultat pogrešaka tijekom replikacije DNA.

Fenotipske promjene:

Mutacije mogu dovesti do promjena u fenotipu bakterijskih stanica.

Broj kromosoma bakterija je haploidan, pa su fenotipske promjene lako uočljive.

Sekundarna rezistencija

Pojava otpornih mutanata:

Antibiotik uklanja osjetljive bakterije, što dovodi do dominacije otpornih mutanata.

Isto fenotipsko svojstvo može biti rezultat različitih genotipskih mutacija.

Biološka cijena rezistencije:

Mutacije se često događaju u genima koji kodiraju esencijalne proteine.

Pojavljuje se potreba za kompenzacijskim mutacijama koje održavaju funkciju proteina i fitnes otporne bakterije

Sekundarna rezistencija

Horizontalni prijenos gena

- Geni za rezistenciju na antibiotike mogu se nalaziti na plazmidima, transpozonima ili integronima
 - Plazmidi su male, kružne, ekstrakromosomalne molekule DNA koje se mogu replicirati neovisno od bakterijskog kromosoma. Plazmidi koji se mogu samostalno prenijeti nazivaju se konjugativni plazmidi.
 - Transpozoni su pokretni genetički elementi koji se mogu nasumično izrezivati i ugrađivati u kromosom.
 - Integroni stječu otvorene okvire čitanja i pretvaraju egzogene kazete gena u funkcionalne gene.
 - Plazmidi, transpozoni i integroni mogu sadržavati više gena za otpornost na antibiotike.
-
- Horizontalni prijenos gena je prijenos gena između organizama koji se odvija preko tri glavna mehanizma: transformacija, transdukcija ili konjugacija.
 - Horizontalni prijenos gena je jedan od glavnih pokretača evolucije bakterija

Sekundarna rezistencija

- **Transformacija** je prijenos stranog genetičkog materijala iz okoline u bakterijsku stanicu koji se potom može ugraditi u bakterijski kromosom ili plazmid (Sl. a).
- Iako je transformacija najjednostavniji mehanizam horizontalnog prijenosa gena, samo mali broj klinički značajnih bakterija može steći gene za otpornost na antibiotike prirodnom transformacijom
- Transformacija je glavni put širenja rezistencije na penicilin u *Streptococcus pneumoniae* stvaranjem „mozaičnih gena za PBP“. „Mozaični geni za PBP“ kodiraju proteine koji imaju smanjeni afinitet vezivanja na β -laktamske antibiotike

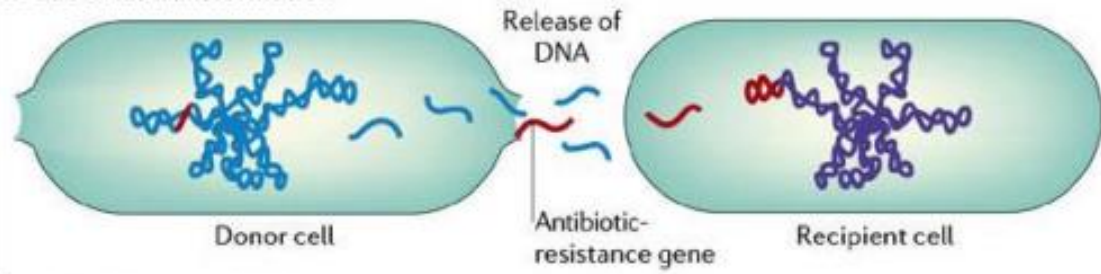
Sekundarna rezistencija

- **Transdukcija** je proces u kojem bakteriofagi, virusi koji inficiraju bakterije, prenose gene iz jedne bakterije u drugu (Sl. b).
 - Budući da se bakteriofagi vezuju na specifične receptore na površini bakterijske stanice, transdukcija je **visoko specifičan proces**.
 - Transdukcija je glavni mehanizam kojim *Staphylococcus aureus* prima gene za
-

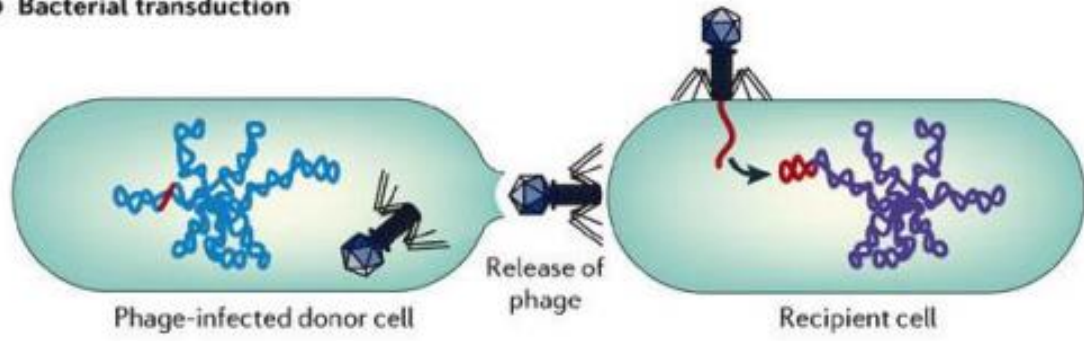
Sekundarna rezistencija

- **Konjugacija** je proces prijenosa plazmida ili transpozona iz jedne bakterije u drugu koji zahtijeva direktan kontakt između dviju stanica (Sl. c).
- Istraživanja pokazuju da je učestalost konjugacije u prirodnim uvjetima puno veća nego učestalost konjugacije u laboratorijskim uvjetima
- Iako je konjugacija glavni mehanizam horizontalnog prijenosa gena, novija istraživanja pokazuju da je značaj transformacije i transdukcije, u kontekstu stjecanja antibiotske rezistencije kod bakterija, puno veći nego što se dosad mislilo

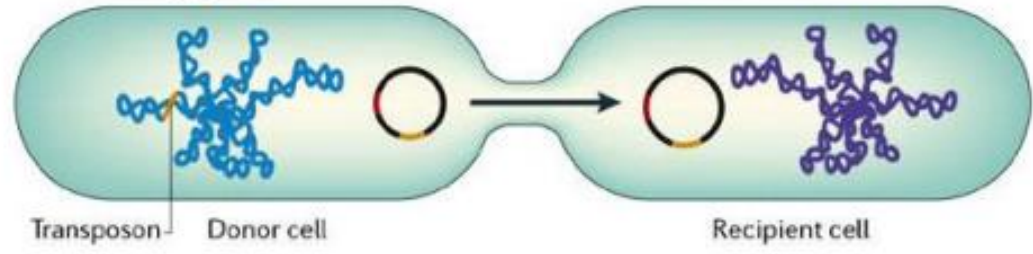
a Bacterial transformation



b Bacterial transduction



c Bacterial conjugation

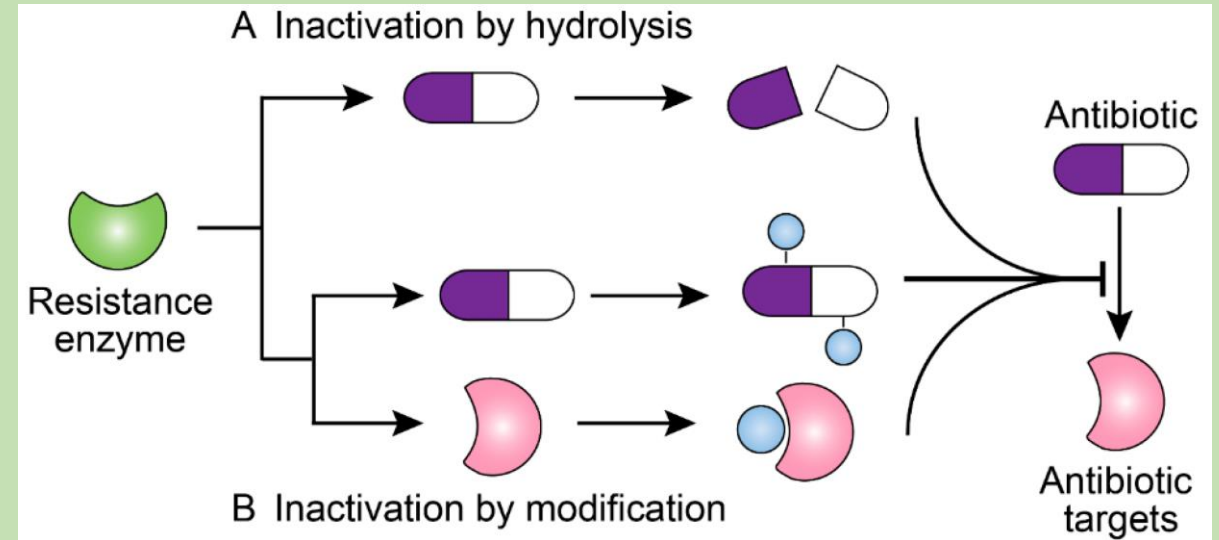


Horizontal prijenos gena

Enzimaska modifikacija antibiotika

Osnovni koncept:

- Bakterije stvaraju enzime koji inaktiviraju antibiotike.
- Enzimi poput β -laktamaza, acetilaza i fosforilaza mijenjaju strukturu antibiotika.



Lokacija gena:

- Geni odgovorni za enzimsku inaktivaciju mogu se nalaziti na plazmidima, transpozonomima ili integronima.
- Ovo je ključni mehanizam rezistencije na β -laktamske antibiotike, aminoglikozide i kloramfenikol.

Primjeri:

- β -laktamski antibiotici: *Staphylococcus aureus* proizvodi β -laktamaze koje inaktiviraju penicilin i cefalosporine.
- Aminoglikozidi: Enzimi kovalentno modificiraju amino ili hidroksilne skupine, kao kod rezistencije enterokoka i *Staphylococcus aureus*.
- Kloramfenikol: Kloramfenikol acetiltransferaza acetilira i inaktivira kloramfenikol, primjerice u *Escherichia coli*.

Promjena u molekularnoj strukturi ciljnog mjesta za antibiotik

Osnovni koncept:

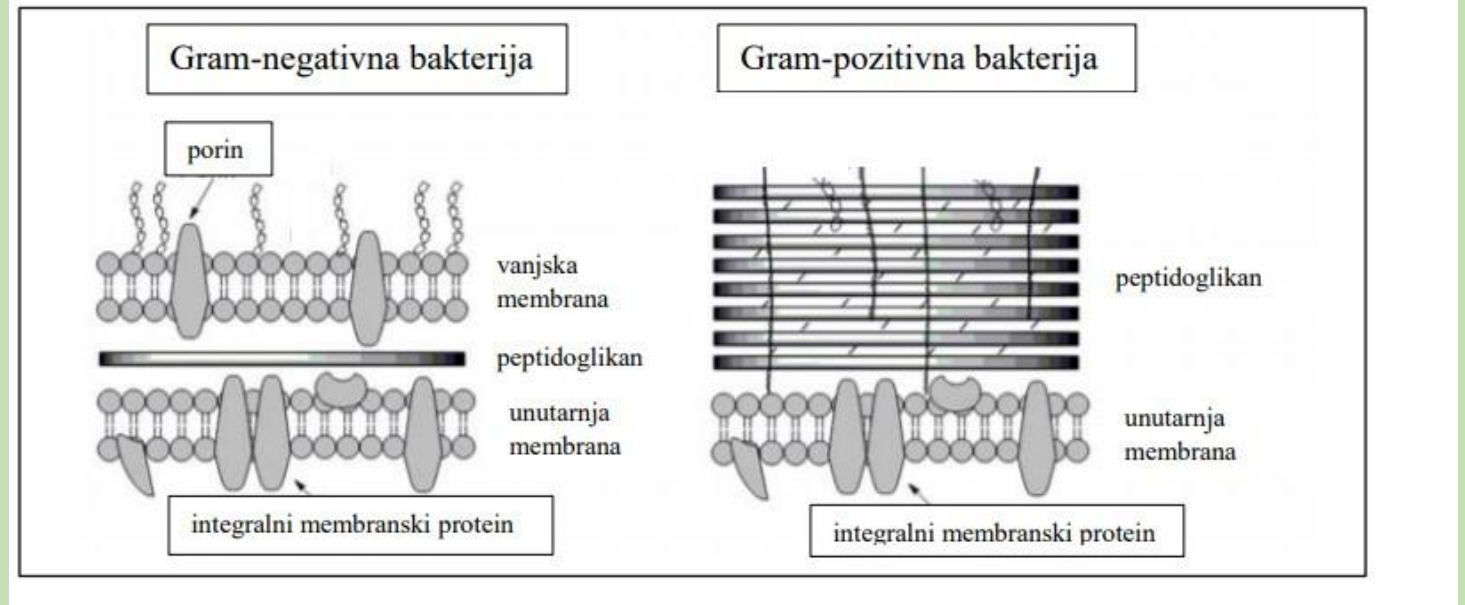
- Bakterije mijenjaju ciljno mjesto antibiotika kako bi smanjile afinitet prema njima.
- To može uključivati mutacije u genima ili enzimske promjene ciljnog mjesta.
- Kod ovog mehanizma rezistencije, antibiotik ulazi u stanicu i dolazi do ciljnog mjesta, ali ne može djelovati na njega zbog promjene ciljnog mjesta

Primjeri:

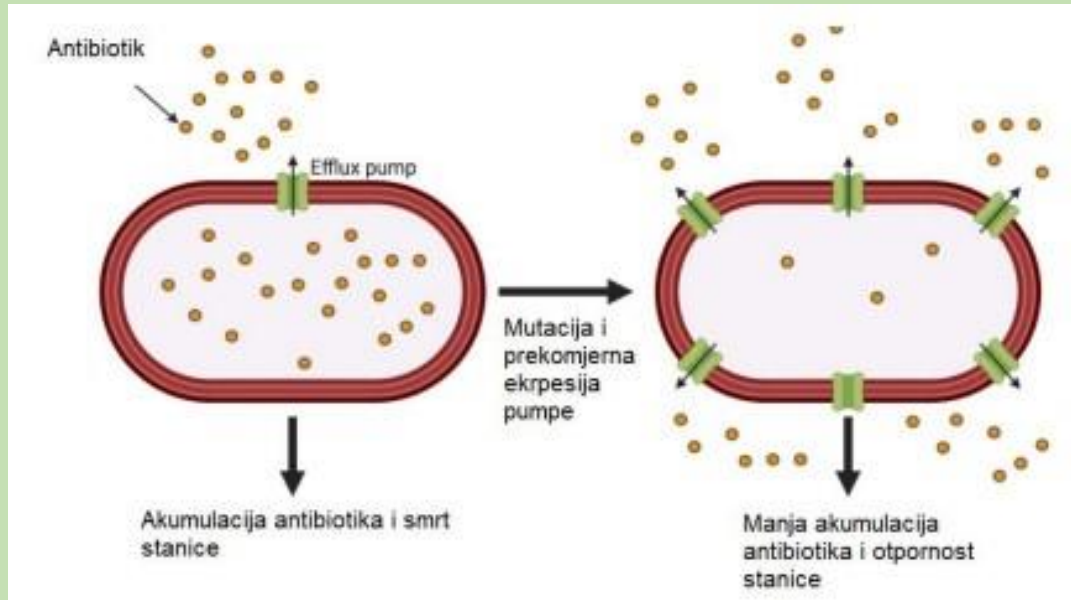
- Smanjenjem afiniteta PBP-a za antibiotik ili smanjenjem broja PBP-a koje stvara bakterija, može nastati rezistencija na β -laktamske antibiotike → uzrok rezistencije *Streptococcus pneumoniae* na peniciline
- Mehanizam za rezistenciju na makrolide, linkozamide i streptogramine je isti; metilacija adeninskog ostatka na 50S podjedinici ribosoma onemogućava vezanje antibiotika. Ovo je glavni mehanizam razvoja multiple-rezistencije na ovu skupinu antibiotika kod gram-pozitivnih bakterija
- Tetraciklini, makrolidi, linkozamidi: Promjene na ribosomu sprječavaju vezanje antibiotika, primjerice kod *Campylobacter jejuni* i razvoja multiple rezistencije kod gram-pozitivnih bakterija.
- Kinoloni: Sinteza proteina Qnr može blokirati vezanje antibiotika na DNA girazu i topoizomerazu IV, što se vidi kod *Klebsiella pneumoniae*.

Promjena propusnosti bakterijske vanjske membrane

- Karakteristično za gram-negativne bakterije.
- Vanjska membrana djeluje kao permeabilna barijera, sprječavajući ulazak velikih hidrofobnih molekula, poput kloramfenikola.
- Ulazak hidrofилnih antibiotika osiguran je postojanjem porina (β -laktamski antibiotici, tetraciklini, aminoglikozidi itd.)
- **Promjene propusnosti mogu se dogoditi zbog smanjene sinteze, promjene ili potpunog gubitka porina \rightarrow rezistencija**



Pojačano izbacivanje antibiotika iz stanice pomoću efluks pumpi



- Aktivan mehanizam koji omogućava bakterijama da izbace antibiotike iz stanice brže nego što se oni mogu nakupiti u njoj da bi dostigli djelotvornu koncentraciju
- Pronađen u gram-negativnim i gram-pozitivnim bakterijama.
- Efluks pumpe mogu biti specifične za određeni antibiotik ili šire specifičnosti koje obuhvaćaju više antibiotika.
- Bakterije mogu razviti otpornost na tetracikline i makrolide putem ovog mehanizma.

Prijenos tuberkuloze i imunološki odgovor:

- Tuberkuloza se širi respiratornim kapljicama od aktivnih bolesnika.
- Duljina izlaganja i blizina utječu na rizik prijenosa.
- Imunološki sustav stvara tuberkule, ali ne može spriječiti aktivnu TB kod 5% slučajeva.
- Reaktivacija latentne TB javlja se kod 10%, pogađajući trećinu svjetske populacije.
- Imunološki odgovor uključuje alveolarne makrofage i dendritičke stanice.
- *Mycobacterium tuberculosis* izbjegava eliminaciju makrofaga.

Pregled liječenja:

- Prva linija lijekova uključuje Ethambutol, Pyrazinamide, Isoniazid i Rifampicin.
- Ciljaju sintezu stanične stijenke, metabolizam, sintezu mikolinske kiseline i RNA polimerazu.
- Kombinirana terapija smanjuje rizik od recidiva, ali povećava otpornost na lijekove.

Mehanizmi otpornosti na lijekove:

- *Mycobacterium tuberculosis* koristi nekoliko mehanizama:
- Nepropusna stanična stijenka
- Sporo metaboliziranje
- Pumpe za izbacivanje lijekova
- Degradacija i modifikacija lijekova
- Modifikacija i oponašanje ciljnog mjesta
- Ti mehanizmi mogu biti intrinzični ili stečeni.

Intrinzični mehanizmi otpornosti:

- Nepropusnost stanične stijenke zbog sastava lipida.
- Sporo metaboliziranje smanjuje učinkovitost lijekova.
- Pumpe za izbacivanje lijekova izbacuju antibiotike iz stanice.
- Enzimska degradacija i modifikacija inaktiviraju lijekove.
- Modifikacija ciljnog mjesta vezanja sprječava vezanje lijeka.

Stečeni mehanizmi otpornosti:

- Proizlaze iz kromosomskih mutacija.
- Mutacije u specifičnim genima dovode do multirezistentne TB.
- Metabolička obilaznica omogućuje bakterijama preživljavanje izloženosti antibiotiku.

Primjeri repozicioniranih lijekova:

Bedakvilin, Linezolid, Klofazimin, Nitazoksanid i Disulfiram.

Izvorno razvijeni za druge uvjete, sada se koriste protiv TB.

Pokazuju potencijal u liječenju multirezistentne TB i poboljšanju ishoda pacijenata.

Zaključak:

Multirezistentna TB predstavlja izazove, ali inovativni pristupi pružaju nadu.

Kontinuirana istraživanja i razvoj ključni su za učinkovito liječenje TB. Repozicioniranje postojećih lijekova i razvoj novih terapija obećavajuće su strategije.

Mycobacterium tuberculosis ima različite mehanizme otpornosti na antibiotike, uključujući molekularno oponašanje. Vežanje fluorokinolona za DNA girazu ili topoizomerazu inhibira replikaciju, transkripciju, popravak i razgradnju DNA. Što dovodi do smrti stanice.

MfpA, protein otporan na fluorokinolone kod mikobakterija, prisutan je u *Mycobacterium tuberculosis* i oponaša oblik i veličinu DNA B-forme, omogućavajući mu da se veže za DNA girazu i spriječi fluorokinolone da se vežu za nju.



Modifikacija cilja najčešći je mehanizam stečene rezistencije kod *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium tuberculosis* često pokazuje otpornost na rifampicin, izonijazid, fluorokinolone, aminoglikozide, cikličke peptide, para-aminosalicilnu kiselinu i oksazolidinone zbog mutacija u genima koji kodiraju ciljno mjesto lijeka ili nukleotidnim supstitucijama u operonu koji kodira rRNA.

Odbacivanje aktivacije predlijeka je još jedan mehanizam otpornosti na lijekove kod mikobakterija. Primjeri takvih lijekova su izonijazid, pirazinamid, etionamid, para-aminosalicilna kiselina, delamanid i pretomanid. Brojne točkaste mutacije i umetanja/brisanja u kromosomu mogu biti odgovorne za deaktivaciju predlijeka.

Mutacija u transkripcijskom repressoru ili promotoru mjesta cilja lijeka može rezultirati pretjeranim izražavanjem ciljnog mjesta. Zbog inhibicije djelovanja lijeka, višak ciljnih mjesta može dovesti do razvoja rezistencije na antibiotike.

Mutacija na „vrućim mjestima“ u genima za otpornost na lijekove je česta pojava koja se nalazi u specifičnom genu. Kod TB infekcije, veća učestalost mutacija u genu vjerojatno povećava vjerojatnost razvoja višestruko otporne TB. Otprilike 95% mutacija povezano je s rifampicinom. Mutacija se često nalazi unutar 81 bp regije za određivanje rezistencije na RIF (RRDR) gena rpoB. Ova RRDR je regija česta za mutacije. Osnovni mehanizam je nesinonimna mutacija koja uzrokuje promjenu jedne aminokiseline od 12 aminokiselina s kompaktnim bočnim lancem u aminokiselinu s velikim bočnim lancem. To uzrokuje inaktivaciju aktivnog mjesta RNA polimeraze i daje RIF rezistenciju. Potvrda mutacije na „vrućim mjestima“ gena rpoB koristeći multiplex alel-specifični PCR (MAS-PCR) dokazuje da je frekvencija mutacija bila veća na kodonima 531, 526 i 516.

Metabolički bypass je sposobnost *Mycobacterium tuberculosis*, bakterije koja uzrokuje TB, da izbjegava ili zaobilazi metaboličke putove koji su specifično ciljani antimikrobnim lijekovima. To mogu biti intrinzični i stečeni procesi koji su bitni za razvoj i opstanak bakterije. Alternativni putovi ili enzimi koji nadoknađuju blokirane ili otežane metaboličke procese mogu biti uključeni u metaboličke bypass sustave. Korištenjem ovih izlaznih putova, bakterije mogu nastaviti provoditi ključne metaboličke procese, uključujući stvaranje energije, biosintezu ili unos hranjivih tvari, čak i dok su prisutni antimikrobni lijekovi. Zbog metaboličke prilagodljivosti otpornih sojeva, liječenja često ne uspijevaju, a bolest perzistira unatoč naporima za njezino iskorjenjivanje.

1. Standardna terapija:

Kombinacija lijekova protiv *Mycobacterium tuberculosis*.

Lijekovi se uzimaju kroz dulje razdoblje za potpuno izlječenje.

2. Dugotrajno liječenje:

Traje najmanje 6 mjeseci do 2 godine, ovisno o ozbiljnosti bolesti.

Održava se potpuno liječenje i sprječava povratak bolesti.

3. Direktno promatranje terapije (DOT):

Osigurava redovito uzimanje lijekova pod nadzorom zdravstvenih radnika.

Smanjuje rizik od otpornosti na lijekove i nepridržavanja terapije.

4. Prevencija širenja infekcije:

Identifikacija i liječenje kontakata zaraženih osoba.

Promicanje higijenskih mjera i edukacija o prevenciji.

5. Kombinacija lijekova:

Ključna za sprječavanje otpornosti na lijekove i uspješno liječenje.

Uključuje izonijazid, rifampicin, pirazinamid, etambutol, streptomycin.

6. Liječenje komplikacija:

Prilagodba terapije i dodatni lijekovi za multidrug-rezistentne sojeve.

7. Podrška i praćenje:

Redoviti medicinski pregledi, praćenje nuspojava i emocionalna podrška

Problemi današnjice

Konstantna prisutnost antibiotika u okolišu stvara selektivni pritisak na bakterije, potičući razvoj rezistentnih sojeva.

MDR bakterije su otporne na više antibiotika, teško ih je liječiti.

Godišnje u Europi, 33 000 ljudi umire od infekcija izazvanih MDR bakterijama odnosno „superbakterija”

Primjeri MDR bakterija:

MRSA je jedan od glavnih uzročnika bolničkih infekcija → *Methicilin Resistant Staphylococcus aureus*

MRSA posjeduje gen *mecA* koji ga čini otpornim na različite antibiotike.

Drugi primjeri uključuju *Neisseria gonorrhoeae*, *Clostridium difficile* i *CRE*.

Uzroci antibiotske rezistencije:

Razlozi za prekomjernu upotrebu antibiotika:

Nedovoljna informiranost ljudi o antibioticima i rezistenciji.

Česta i nekritična upotreba antibiotika od strane liječnika.

Nedostatak brzih dijagnostičkih testova za identifikaciju bakterijskih infekcija.

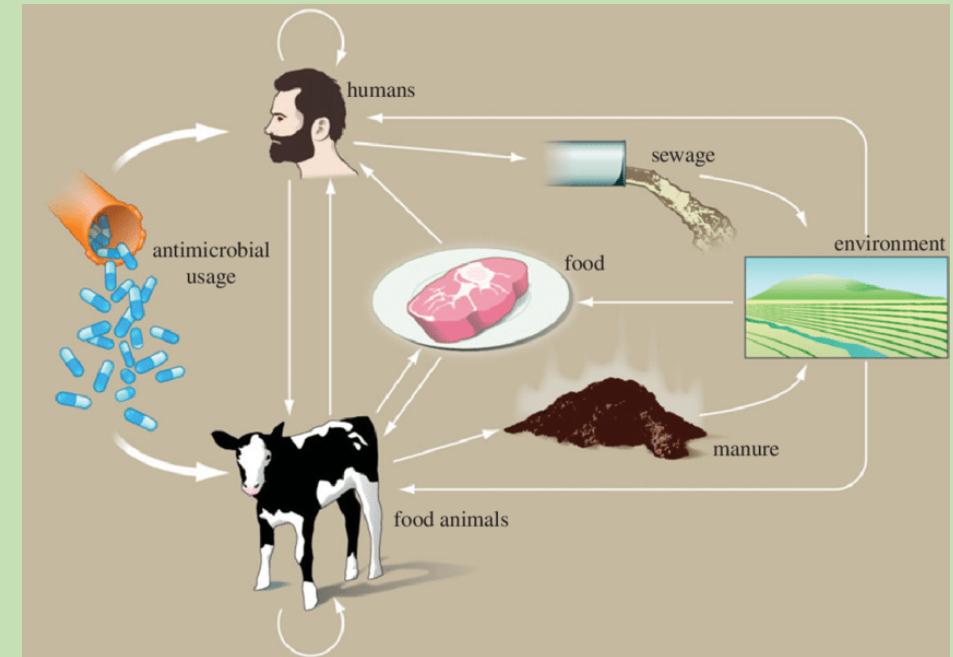
Korištenje antibiotika u životinjskom sektoru:

Velik dio antibiotika koristi se za poticanje rasta životinja, što doprinosi rezistenciji.

Procjenjuje se da se 70-80% antibiotika u SAD-u koristi u svrhu poticanja težine domaćih životinja.

Regulacija upotrebe antibiotika:

U Europskoj Uniji, upotreba antibiotika u životinjskoj hrani u svrhu poticanja rasta zabranjena je od 2006. godine.



Izazovi i potreba za djelovanjem:

Rastući problem rezistencije prijeti povratku preantibiotske ere.

Potrebno poduzeti korake za usporavanje širenja rezistencije.

Edukacija kao ključni faktor:

Potrebna veća edukacija o antibioticima, njihovoj primjeni i razlikovanju virusnih od bakterijskih infekcija.

Podučavanje u školama, organiziranje projekata, radionica i znanstvenih skupova.

Politika treba podržati inicijative za podizanje svijesti, kao što je Europski dan svjesnosti o antibioticima.



Uloga zdravstvenih djelatnika:

Liječnici trebaju racionalno propisivati antibiotike, procjenjujući potrebu terapije i rizike.

Potrebni su brži dijagnostički testovi za identifikaciju uzročnika i osjetljivosti na antibiotike.

Razvoj novih antibiotika i ARBs:

Potrebno je istraživanje novih antibiotika i antibiotika koji prekidaju rezistenciju.

Inhibitori β -laktamaza su primjer takvih lijekova.

Globalna suradnja i svijest:

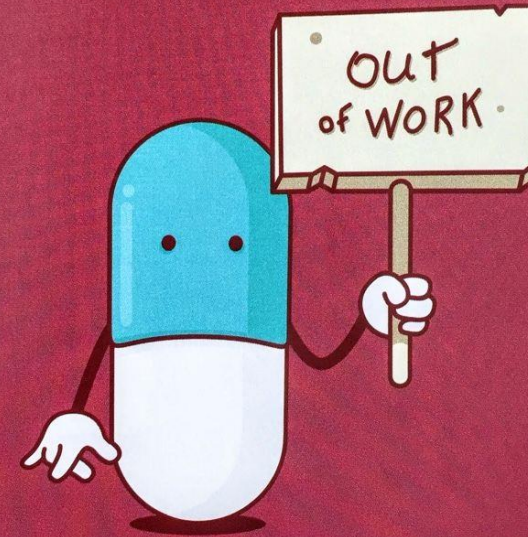
Važna je globalna suradnja u praćenju upotrebe antibiotika i rezistencije.

Podizanje svijesti o važnosti problema i potrebi djelovanja svakog pojedinca

MOGUĆE ALTERNATIVE	MEHANIZAM DJELOVANJA	VJEROJATNI SPEKTAR AKTIVNOSTI I PRIMJENA
Protutijela	Vežu se na patogen, njegove virulentne faktore ili toksine i inaktiviraju ih.	Liječenje infekcija uzrokovanih Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Moguća uporaba kao adjuvansa.
Probiotici	Probiotici su živi organizmi koji, kada se daju u ispravnoj količini, doprinose zdravlju domaćina.	Sprječavanje ili liječenje dijareje uzrokovane antibioticima i bakterijom <i>Clostridium difficile</i> .
Lizini	Lizini faga su enzimi koje koriste bakteriofagi kako bi uništili staničnu stijenku bakterija te se mogu koristiti kao zamjena antibioticima jer imaju direktnu antibakterijsku aktivnost. Mogli bi imati ulogu i kao adjuvantna terapija jer smanjuju bakterijsku barijeru i oslabljuju biofilm.	Liječenje infekcija Gram-pozitivnim bakterijama.
Divlji tip bakteriofaga	Divlji tip bakteriofaga inficira i ubija bakteriju. U stanici domaćina se umnaža te bi se stoga mogao koristiti u malim dozama.	Liječenje Gram-pozitivnih i Gram-negativnih infekcija.
Modificirani bakteriofag	Modificirani bakteriofag dobiva se genetičkim inženjeringom i ima poboljšana terapijska svojstva u odnosu na divlji tip. Genetičkim inženjeringom mogli bi se spriječiti mnogi problemi divljeg tipa kao što su razvoj rezistencije, brza eliminacija nakon sistemske primjene i širina pokrivenosti soja.	Liječenje Gram-pozitivnih i Gram-negativnih infekcija.
Imunosna stimulacija	Imunosna stimulacija predložena je kao dodatna terapija antibioticima. Koristili bi se fenilbutirat i vitamin D kako bi se poticalo stvaranje urođenih antimikrobnih peptida.	Prevenција ili adjuvantna terapija za Gram-pozitivne i Gram-negativne infekcije.
Cjepiva	Ulaganje u nova cjepiva trebalo bi smanjiti incidenciju bakterijskih infekcija te samim time i uporabu antibiotika. Također nam je potrebno više znanja o potrebi cijepljenja starijih i imunokompromitiranih pacijenata.	Prevenција, više Gram-pozitivnih nego Gram-negativnih infekcija.
Antimikrobni peptidi	Prednosti: širok spektar aktivnosti koji uključuje većinu Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija, baktericidno djelovanje, niska stopa rezistencije i slaba imunogeničnost. Potrebno je provesti još studija kako bi se otkrili razlozi zbog kojih se ne primjenjuju sistemski.	Liječenje ili adjuvantna terapija kod Gram-pozitivnih i Gram-negativnih infekcija.
Obrambeni peptidi domaćina i urođeni obrambeni peptidi	Imaju indirektan antimikrobni učinak. Uzrokuju povećanje ekspresije protuupalnih kemokina i citokina i smanjuju ekspresiju proupalnih citokina. Ciljanje odgovora domaćina moglo bi uzrokovati povećanu incidenciju nuspojava te otežati razlikovanje i razumijevanje imunoloških razlika između glodavaca i ljudi na razini populacije.	Dodatna terapija za Gram-pozitivne i Gram-negativne infekcije.
Antibiofilm peptidi	Specifično inhibiraju bakterijski biofilm. Nalaze se u pretkliničkim istraživanjima.	Dodatna terapija za Gram-pozitivne i Gram-negativne infekcije.

When antibiotics stop working,
people require treatments that can be

 → **longer**
 **more toxic**
 **more costly**



Stop Antibiotic Resistance.