

Rezistencija bakterija na antibiotike

Kako nastaje, kako se širi između životinja, ljudi i životne sredine – i šta veterinar može da uradi



Sadržaj predavanja

01

Zašto je rezistencija važna

Globalni teret, najopasnije bakterije, selektivni pritisak

02

Kako bakterije postaju rezistentne

Intrinzična i stečena rezistencija, geni, horizontalni prenos

03

Mehanizmi rezistencije

Pet načina na koje bakterija „pobeđuje“ antibiotik

04

Jedno zdravlje

Životinje ↔ ljudi ↔ životna sredina, primeri iz prakse, mere

Zašto je rezistencija važna



Jedan od **najaktuelnijih problema** savremene medicine – i humane i veterinarske



Krajem 20. veka pojavili su se **panrezistentni** sojevi – rezistentni na **apsolutno sve** postojeće antibiotike

ŠTA TO ZNAČI U PRAKSI

- Infekcije koje su se lako lečile postaju teške ili neizlečive
- Duže lečenje, skuplji lekovi, više uginuća životinja
- Rizičnije operacije, porođaji i intenzivna nega – i kod ljudi i kod životinja

Izvor: Murray i sar., Lancet 2022 (globalna analiza za 204 zemlje)

4,95 miliona

smrti ljudi **povezanih** sa rezistencijom bakterija u 2019. godini

1,27 miliona

smrti **direktno pripisanih** rezistenciji – više nego od HIV-a ili malarije

Koje bakterije su najveći problem?

Šest bakterija odgovornih za najviše smrti povezanih sa rezistencijom (2019)

1 *Escherichia coli* G-

2 *Staphylococcus aureus* G+

3 *Klebsiella pneumoniae* G-

4 *Streptococcus pneumoniae* G+

5 *Acinetobacter baumannii* G-

6 *Pseudomonas aeruginosa* G-



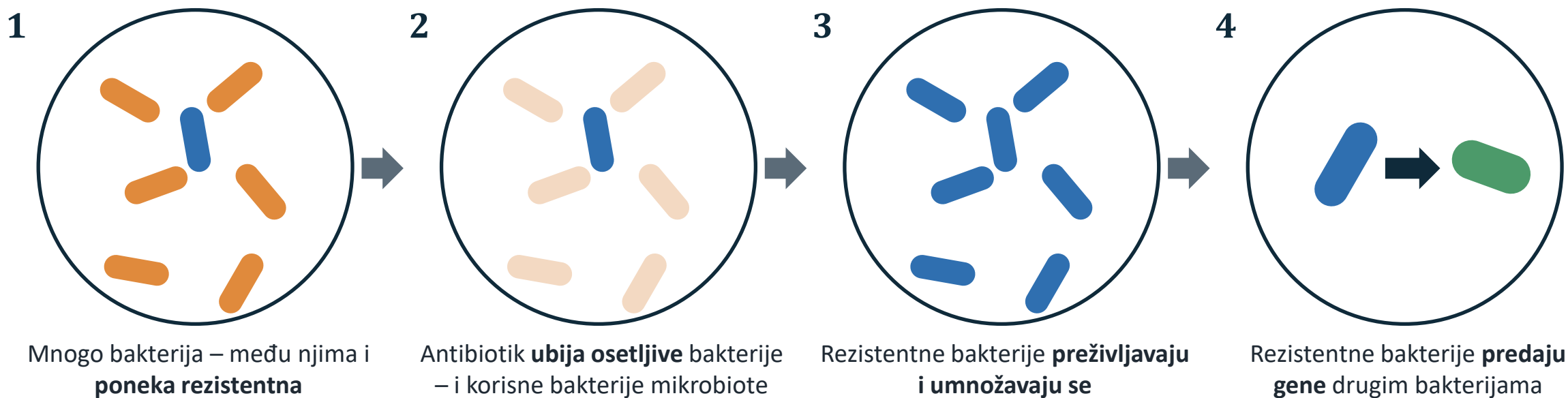
VETERINARSKI UGAO

E. coli, *S. aureus* i *K. pneumoniae* su česti i u veterinarskoj praksi – kolibaciloza, mastitis, infekcije kože i urinarnog trakta. Problem nije „samo humani“.

MRSA sam je 2019. uzrokovao više od **100 000** smrti. Slede: *E. coli* rezistentna na cefalosporine III gen. i fluorohinolone, *K. pneumoniae* i *A. baumannii* rezistentni na karbapeneme

Izvor: Murray i sar., Lancet 2022

Kako nastaje rezistentna populacija



orange osetljiva blue rezistentna light orange uginula

Selektivni pritisak: gde su bakterije izložene antibiotiku, preživljavaju samo otporne, a osetljive budu ubijene → opstaju samo rezistentni sojevi



Antibiotik **ne stvara** rezistenciju – on pravi **selekciju**.

02

Kako nastaje rezistencija

Vrste rezistencije, geni rezistencije i njihov prenos između bakterija



Rezistencija – definicija i vrste

GENI I PRENOS

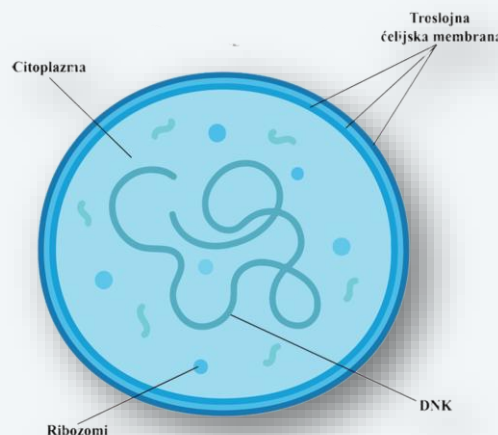
Rezistencija je sposobnost bakterije da se odupre delovanju antibiotika i neometano se umnožava u njegovom prisustvu

Intrinzična (primarna, prirodna)

Prirodna neosetljivost ili smanjena osetljivost – posledica **građe bakterijske ćelije**. Ista je kod svih sojeva vrste.

PRIMERI

- *Mycoplasma* nema ćelijski zid → β -laktami ne deluju
- Gram– bakterije: spoljašnja membrana ne propušta vankomicin
- *P. aeruginosa*: slabo propustljiva spoljašnja membrana; prirodno neosetljiva na sulfonamide i trimetoprim



Stečena (sekundarna)

Nastaje **promenom u genomu** bakterije – samo kod nekih sojeva osetljive vrste.

Mutacije

endogena rezistencija – menja se sopstveni gen

Horizontalni prenos

egzogena rezistencija – bakterija prima **tudi** genetički materijal

Rezistencija je starija od antibiotika

GENI I PRENOS



Bakterije i gljivice **same proizvode antibiotike** kojima ubijaju konkurente okruženju



Proizvođači antibiotika **moraju biti rezistentni** na antibiotik koji izlučuju



Geni rezistencije nađeni su u **izolovanim pećinama i permafrostu** – sredinama bez uticaja čoveka



Za **svaku** do sada uvedenu klasu antibiotika pojavila se rezistencija bar kod nekih patogena



Klinička upotreba antibiotika **nije dovela do pojave** rezistencije, već je samo **pojačala** vidljivu manifestaciju ovog fenomena koji postoji mnogo duže.



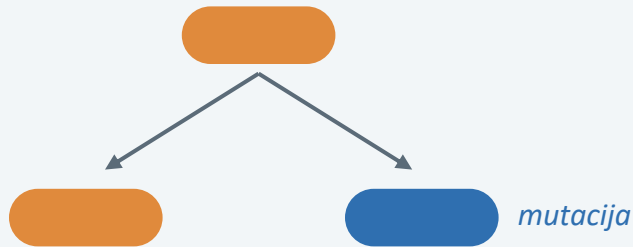
ZAPAMTI

Ono što je novo od 1940-ih: **ogroman selektivni pritisak** – milioni tona antibiotika kod ljudi i životinja.

Izvor: Larsson i Flach, Nat Rev Microbiol 2022

Mutacije ili horizontalni prenos gena?

Vertikalno – mutacije

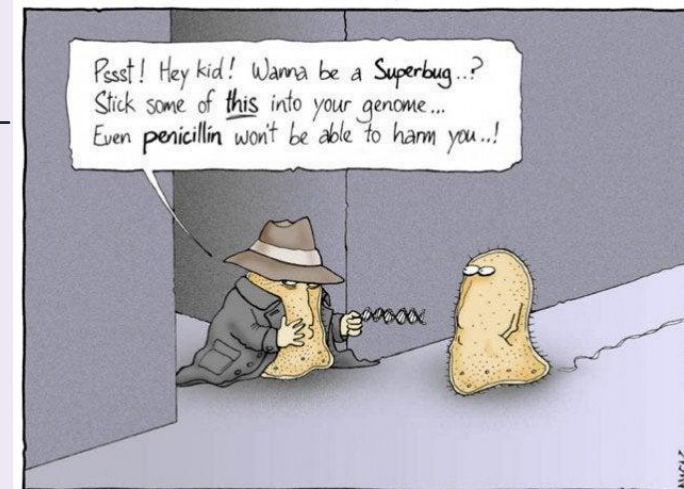


- Spontane, retke greške pri replikaciji DNK
- Prenose se samo na **potomstvo** iste bakterije
- Primer: mutacije gena za **DNK girazu** → rezistencija na fluorohinolone (*Campylobacter*, *E. coli*)

Horizontalno – prenos gena



- Gen prelazi između bakterija – **iste ili različitih vrsta**
- **Brzo** širenje kroz populaciju i između domaćina
- Primer: plazmid sa genom za ESBL prelazi iz komensalne *E. coli* u *Salmonella* ili *Klebsiella*



It was on a short-cut through the hospital kitchens that Albert was first approached by a member of the Antibiotic Resistance.

Tri načina horizontalnog prenosa gena



Konjugacija

Direktan kontakt dve ćelije (seksualna pila); prenosi se **plazmid**

Najvažniji put širenja gena rezistencije

Primer: plazmid sa *mcr-1* prelazi u drugu *E. coli* konjugacijom sa učestalošću 10^{-1} – 10^{-3}



Transformacija

Bakterija preuzima **slobodnu DNK** iz sredine (npr. od uginulih bakterija)

Prirodno kompetentne vrste

Primer: *Streptococcus pneumoniae* – izmenjeni PBP geni „sklopljeni“ iz DNK srodnih streptokoka



Transdukcija

DNK prenosi **bakteriofag** – virus bakterija

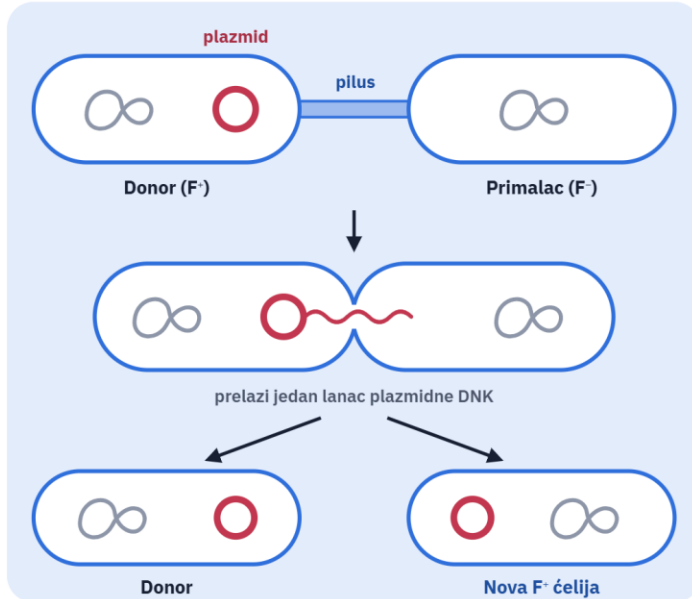
Prenos između srodnih sojeva

Primer: prenos gena između sojeva *S. aureus* bakteriofagima

Tri načina razmene gena

~ preneti DNK (npr. gen rezistencije) ~ hromozom ~ virusna DNK

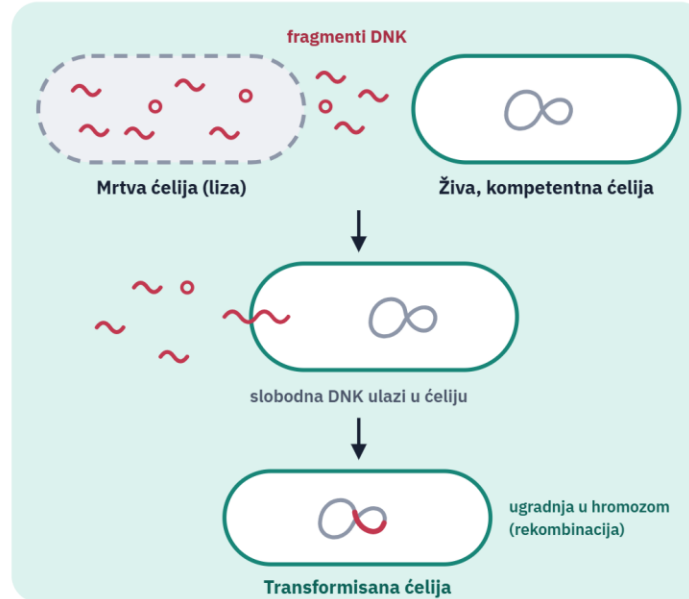
A Konjugacija „Most“ između dve ćelije



Kako: donator preko pila prenosi kopiju plazmida u primaoca, koji i sam postaje donator.

Šta se prenosi: plazmidi (zajedno sa transpozonima i integronima) i konjugativni transpozoni.

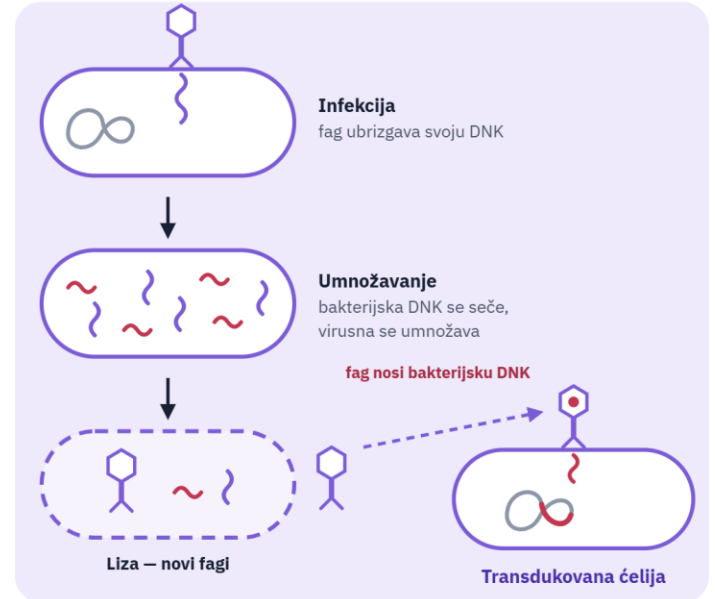
B Transformacija Ćelija „pokupi“ DNK iz okoline



Kako: kompetentna ćelija preuzima slobodnu DNK uginulih bakterija i ugrađuje je rekombinacijom.

Šta se prenosi: fragmenti hromozoma, ređe plazmidi (npr. *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria*).

C Transdukcija Bakteriofag kao „kurir“



Kako: fag greškom spakuje deo bakterijske DNK i unese ga u sledeću bakteriju koju inficira.

Šta se prenosi: fragmenti hromozoma i mali plazmidi (npr. geni rezistencije kod *Staphylococcus aureus*).

Zapamti Konjugacija = kontakt ćelija · Transformacija = slobodna DNK iz okoline · Transdukcija = bakteriofag. Mobilni genetički elementi su „teret“ koji se ovim putevima širi.

Pokretni genetički elementi – „vozila“ za gene

GENI I PRENOS

Plazmidi

Samostalna cirkularna DNK; često nose **više gena** rezistencije odjednom

Transpozoni

„Skakutavi geni“ – premeštaju gen sa hromozoma na plazmid i nazad

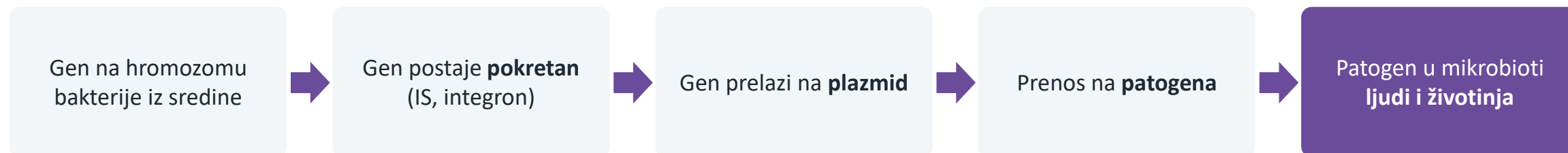
Integroni

„Kolekcionari“ – skupljaju i ugrađuju **genske kasete** sa genima rezistencije

Insercione sekvence

Kratki pokretni delovi DNK koji gen čine pokretnim

PUT GENA OD BAKTERIJE IZ ZEMLJIŠTA DO PATOGENA



ZAPAMTI

Ko-selekcija: kada jedan plazmid nosi više gena, upotreba **jednog** antibiotika (ili teških metala i biocida) održava rezistenciju i na **druge** antibiotike.

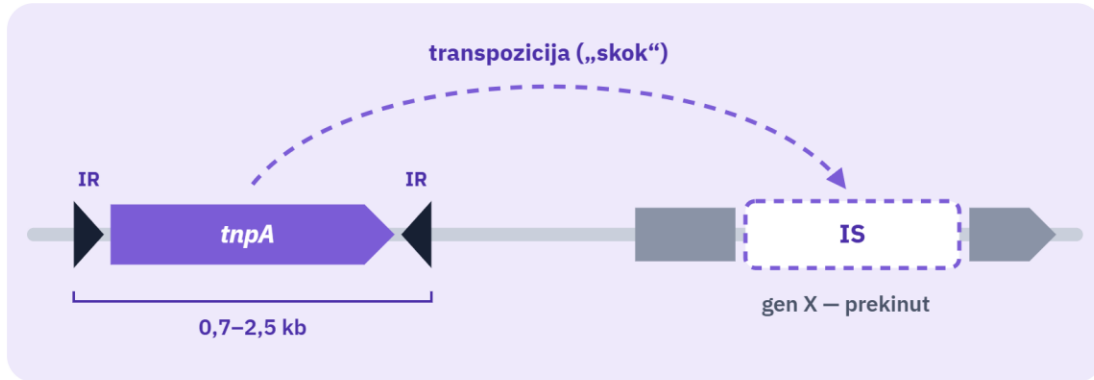
Prema: Larsson i Flach, Nat Rev Microbiol 2022

„Skakači“: insercione sekvence i transpozoni

► IR ► gen ► gen rezistencije

1 Insercione sekvence (IS)

„Skakač bez prtljaga“ — samo motor



ŠTA JE

Najmanji mobilni element (0,7–2,5 kb): samo gen za transpozazu (*tnpA*) između dva invertovana ponovka (IR).

KAKO SE KREĆE

„Skače“ unutar iste ćelije — sa hromozoma na plazmid i nazad. Sam ne prelazi u drugu bakteriju.

ZAŠTO JE VAŽNA

Prekida gen u koji se ubaci, ili — ispred gena — donosi promotor i pojačava njegovu ekspresiju.

Primer: *ISEcp1* mobilise i pokreće gene *bla_{CTX-M}* → ESBL kod *E. coli* iz živine i ljudi.

2 Transpozoni (Tn)

„Skakači sa prtljagom“ — motor + teret



ŠTA JE

Geni za transpoziciju + „teret“: geni rezistencije na antibiotike i teške metale, toksini.

KAKO SE KREĆE

„Iseci-zalepi“ ili „kopiraj-zalepi“ između hromozoma i plazmida. Konjugativni (Tn916) prelaze i u drugu bakteriju.

ZAŠTO SU VAŽNI

Premeštaju gene rezistencije na nove plazmide → isti gen brzo stiže do mnogo bakterija.

Primer: Tn10 → tetraciklin · Tn5 → kanamicin/neomicin · Tn3 → ampicilin (*bla_{TEM-1}*)

Zapamti

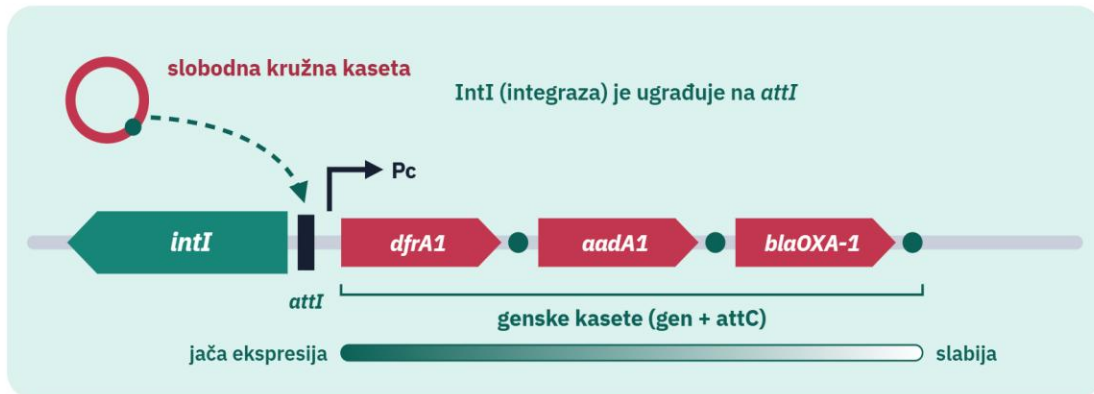
IS = samo motor (transpozaza). Transpozon = motor + teret (npr. gen rezistencije). Oba „skaču“ unutar ćelije — između hromozoma i plazmida.

Sakupljači i prevoznici: integroni i plazmidi

➡ gen rezistencije ● attC

3 Integroni (In)

„Voz za gene“ — promotor je lokomotiva, kasete su vagoni



ŠTA JE „Montažna platforma“: *intI* (integraza) + *attI* (mesto ugradnje) + Pc (promotor). Prihvata genske kasete.

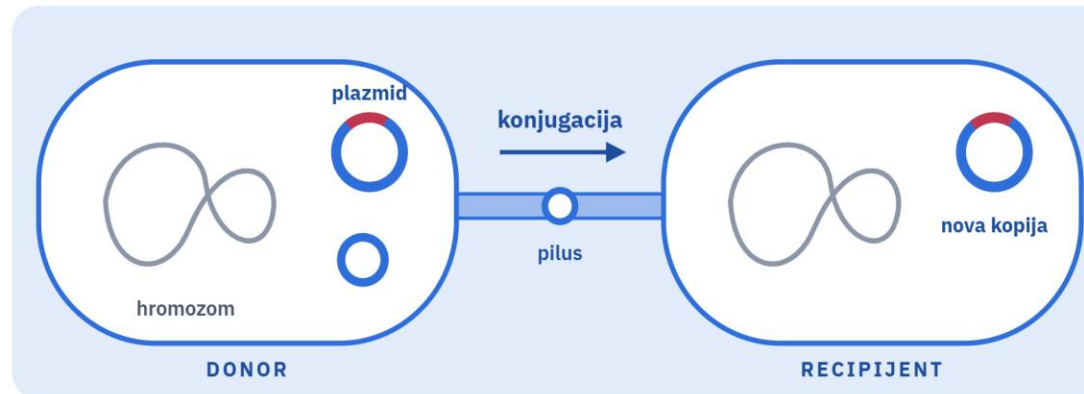
KAKO SE KREĆE Sam se **ne** kreće — nose ga transpozoni i plazmidi. Integraza hvata, ugrađuje i premešta kasete.

ZAŠTO SU VAŽNI Više gena rezistencije na jednom mestu → multirezistencija. Kasete najbliža Pc se najjače ekspimiraju.

Primer: integroni klase 1 (kasete *dfrA*, *aadA*; *sul1*) — česti kod *E. coli* i *Salmonella* iz domaćih životinja.

4 Plazmidi

„Autobus između bakterija“ — prevozi sve ostale



ŠTA JE Najčešće kružna dvolančana DNK van hromozoma, sa sopstvenim *ori* — replikuje se samostalno. Od ~1 do >200 kb.

KAKO SE KREĆE Konjugacijom preko pila — i između različitih vrsta i rodova. Nosi IS, transpozone i integrone.

ZAŠTO SU VAŽNI Glavno „vozilo“ horizontalnog prenosa gena rezistencije i virulencije.

Primer: *mcr-1* (kolistin) — otkriven 2015. kod *E. coli* od svinja u Kini · pXO1 i pXO2 — virulencija *B. anthracis*.

Geni rezistencije - primeri

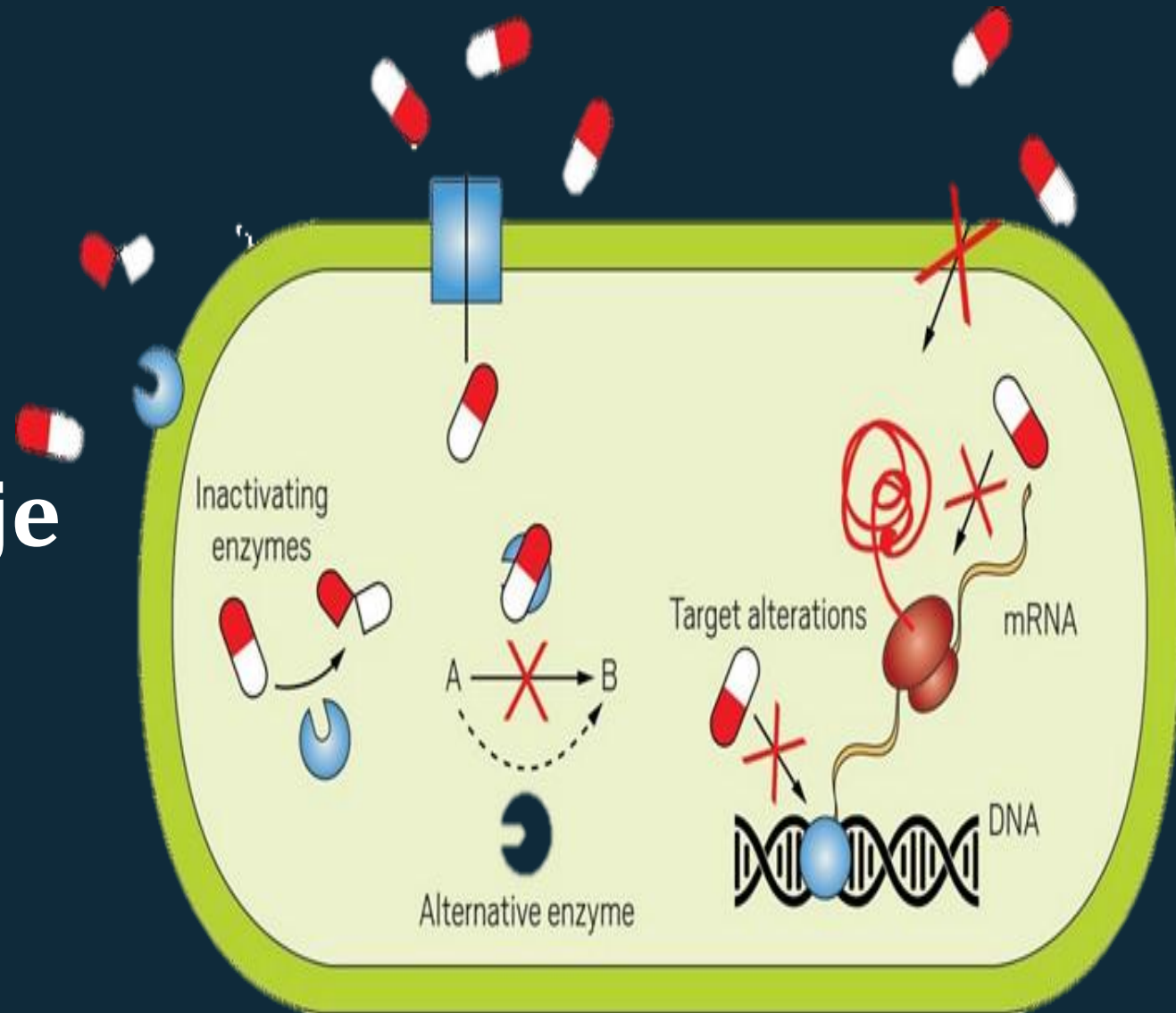
Gen	Šta radi	Rezistencija na	Gde ga srećemo
<i>mecA</i>	kodira izmenjen PBP (PBP2a)	sve β -laktame	MRSA – ljudi, svinje (LA-MRSA), konji, psi
<i>blaCTX-M</i>	ESBL – β -laktamaza proširenog spektra	peniciline, cefalosporine III gen.	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> – živina, goveda, ljudi
<i>blaNDM</i> , KPC, OXA-48	karbapenemaze	karbapeneme	<i>K. pneumoniae</i> , <i>A. baumannii</i> – bolnice
<i>vanA</i>	menja ciljno mesto (D-Ala-D-Ala $\rightarrow$ D-Ala-D-Lac)	vankomicin	enterokoke (VRE) – avoparcin kod životinja
<i>mcr-1</i>	menja lipid A spoljašnje membrane	kolistin	<i>E. coli</i> – svinje, meso, ljudi
<i>tet(A)</i> , <i>tet(M)</i>	efluks pumpa / zaštita ribozoma	tetracikline	mnoge vrste, životinje i ljudi
<i>qnr</i>	štiti DNK girazu	fluorohinolone	<i>Enterobacterales</i>

Nazivi gena pišu se *italic* (npr. *mecA*), a proteina normalnim slovima (PBP2a, MCR-1)

03

Mehanizmi rezistencije

Pet načina na koje bakterija „pobeđuje“ antibiotik



Pet mehanizama rezistencije

1

Enzimska inaktivacija

enzim razgradi ili izmeni antibiotik

≈ ključ se slomi

2

Izmena ciljnog mesta

antibiotik više ne može da se veže

≈ promenjena brava

3

Efluks pumpe

antibiotik se izbacuje iz ćelije

≈ ključ izbačen kroz vrata

4

Smanjen ulazak u ćeliju

antibiotik ne prolazi kroz omotač

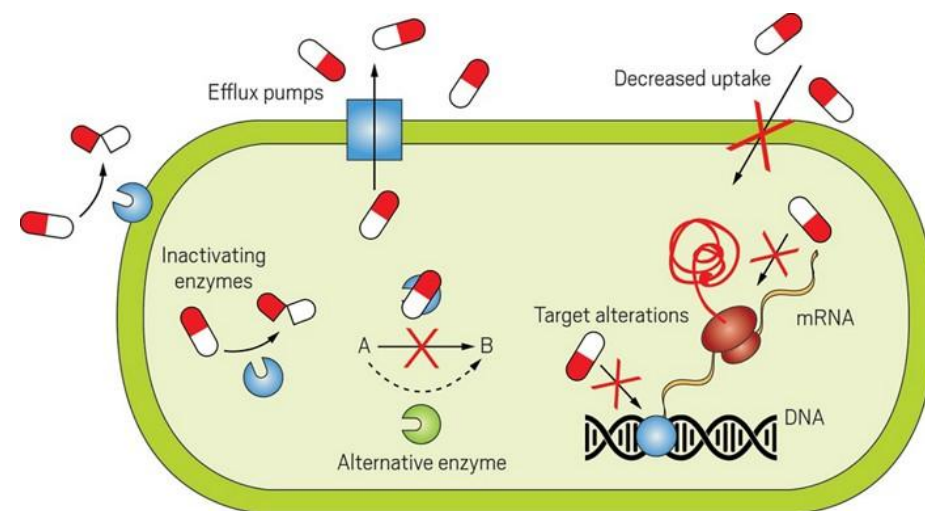
≈ zaključana kapija

5

Zaštita ciljnog mesta

protein „pokrije“ ciljno mesto

≈ neko drži ruku na bravi



Mehanizmi rezistencije u bakterijskoj ćeliji



POMOĆ ZA PAMĆENJE

Analogija **ključ i brava**: antibiotik je ključ, ciljno mesto je brava. Bakterija može da slomi ključ, promeni bravu, izbaci ključ, zatvori kapiju ili pokrije bravu.

Enzimaska inaktivacija antibiotika

MEHANIZAM 1

Bakterije proizvode enzime koji **razlažu** antibiotike. Najvažnije su **β -laktamaze** – cepaju β -laktamski prsten penicilina, cefalosporina i karbapenema.

sve širi spektar →



Enzimi inaktiviraju i **aminoglikozide** – acetilacijom, fosforilacijom ili adenilacijom molekula

KAKO SE BORIMO

Inhibitori β -laktamaza dodaju se antibioticima: klavulanska kiselina, sulbaktam, tazobaktam
→ npr. *amoksisilin + klavulanska kiselina*

Penicilini otporni na penicilinaze: kloksacilin, oksacilin
→ npr. kloksacilin kod mastitisa krava

Karbapenemaze klasični inhibitori uglavnom ne zaustavljaju

Izmena ciljnog mesta delovanja

MEHANIZAM 2

Receptor (ciljno mesto) može biti **modifikovan** ili **zamenjen** tako da se lek više ne može vezati

MRSA

mecA → **PBP2a** – novi PBP za koji se β -laktami ne vezuju → rezistencija na **sve β -laktame**

VRE

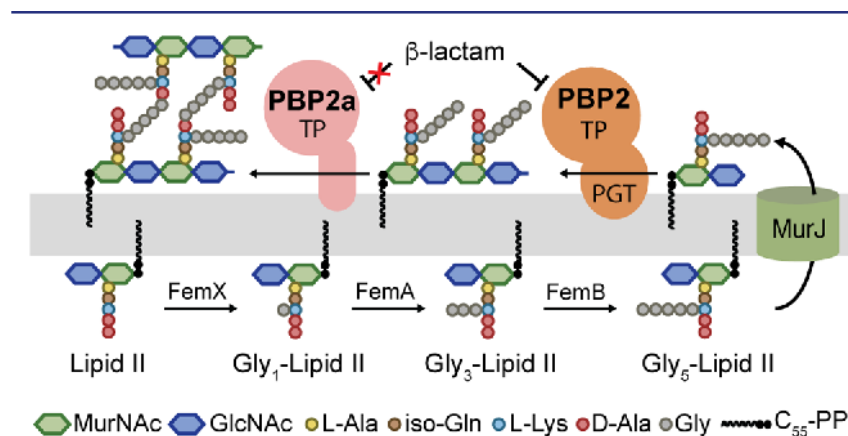
vanA → završetak prekursora peptidoglikana **D-Ala-D-Lac** umesto D-Ala-D-Ala → vankomicin se ne vezuje

Kolistin

mcr-1 dodaje fosfoetanolamin na **lipid A** → manje negativan naboj, kolistin se slabije vezuje

Fluorohinoloni

Mutacije gena za DNK girazu → enzim ostaje funkcionalan, ali ga lek ne prepoznaje



PBP2a ne vezuje β -laktam – sinteza zida se nastavlja



VEZA SA PRETHODNIM

Isti PBP sa prošlog predavanja: MRSA ima „rezervni“ PBP2a na koji penicilini ne deluju.

Efluks sistem (pumpe)

- Efluks pumpe su **transmembranski proteini** koji **aktivnim transportom** izbacuju supstance iz ćelije
- Značajan **utrošak energije** – iz citoplazme se izbacuju metaboliti, strane i nepotrebne komponente, toksini i lekovi
- Antibiotik se ne razgrađuje – samo mu se **smanjuje koncentracija** do nivoa na kome ne može da ispolji efekat

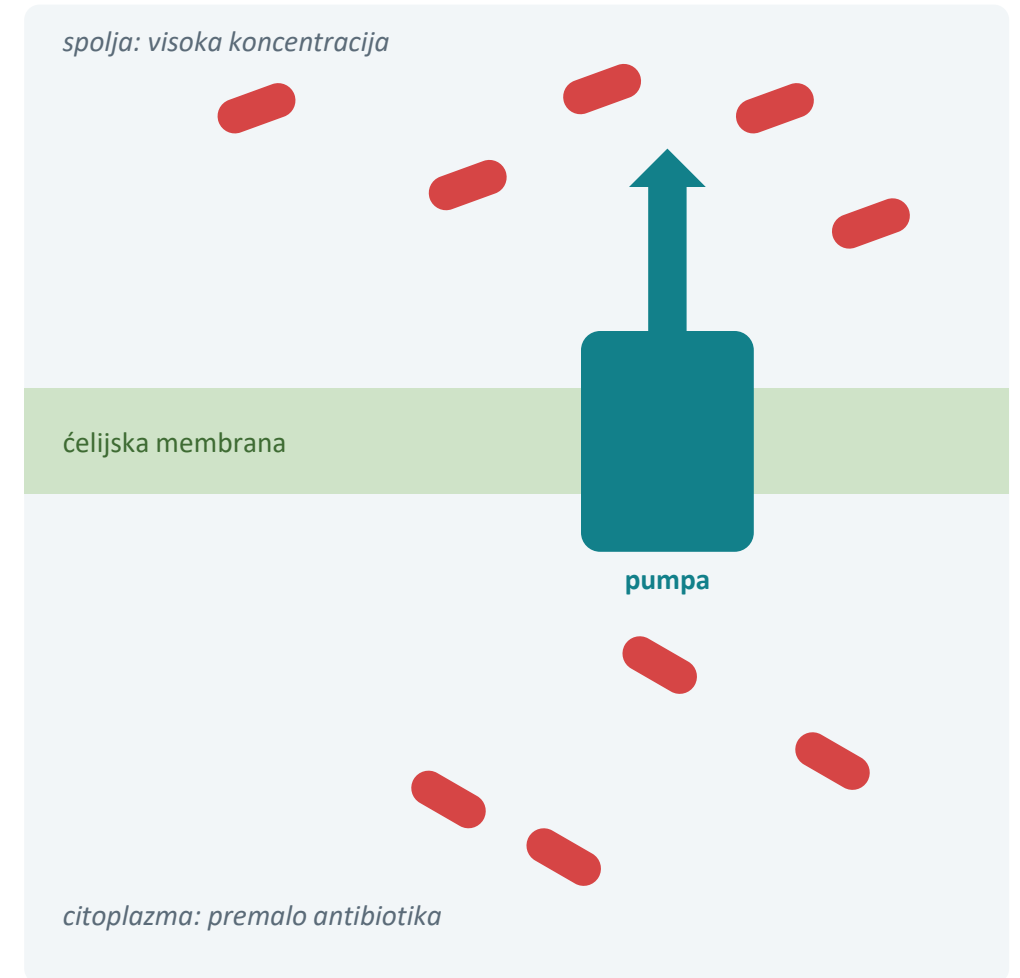
Specifične pumpe

Jedna grupa lekova – npr. **tet(A)** pumpe za tetracikline

Multidrug pumpe

Više grupa odjednom → **multirezistencija** (AcrAB-TolC kod *E. coli*, MexAB-OprM kod *P. aeruginosa*)

MEHANIZAM 3



Smanjen ulazak i zaštita ciljnog mesta

MEHANIZMI 4 i 5

4

Redukcija prolaska antibiotika u bakteriju

- Spoljašnja membrana nekih vrsta je **značajno manje propustljiva** nego kod drugih
- *Pseudomonas aeruginosa* – antibiotik otežano ili nikako ne prolazi u unutrašnjost bakterije
- Gubitak **porina** (kanala u spoljašnjoj membrani) – npr. gubitak porina OprD kod *P. aeruginosa* → rezistencija na imipenem

5

Zaštita ciljnog mesta delovanja

- Bakterija proizvodi **proteine** koji se vežu za ciljno mesto i štite ga od antibiotika
- **Tet(M), Tet(O)** – štite ribozom od tetraciklina
- **Qnr** proteini – štite DNK girazu od fluorohinolona
- Opisan i kod bakterija iz zemljišta koje same proizvode antibiotike

04

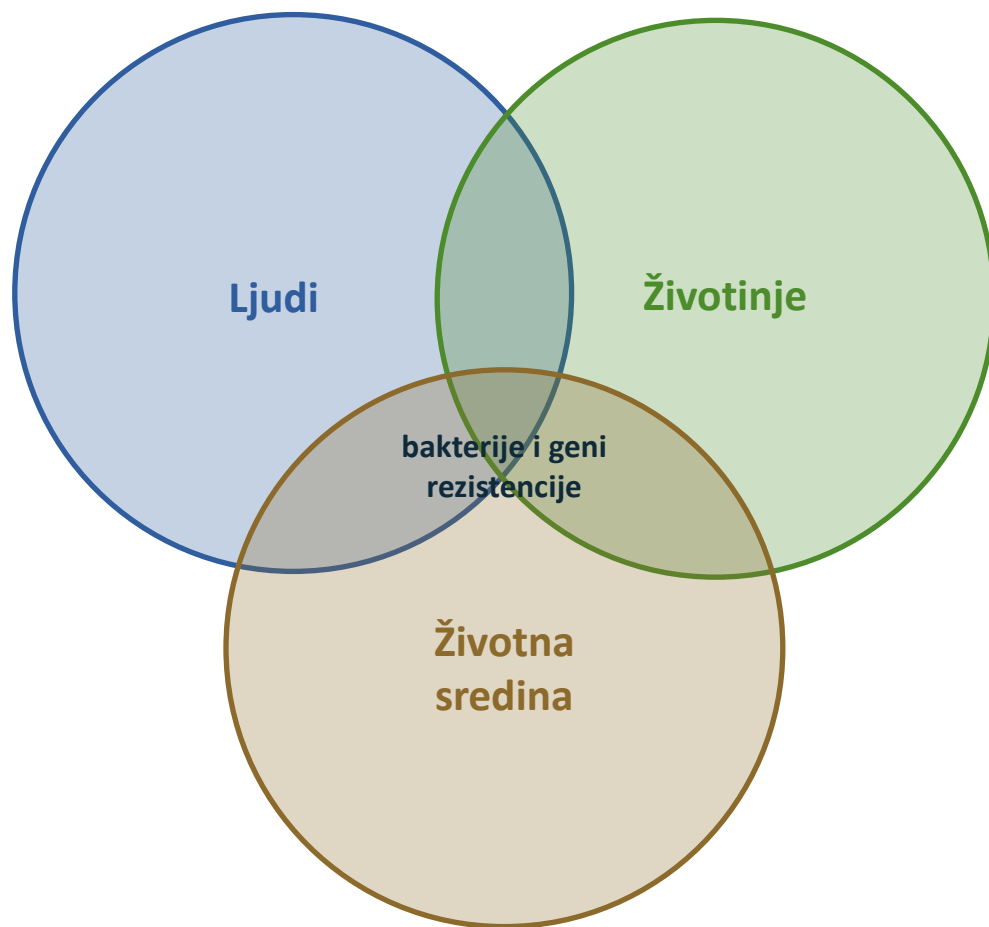
Jedno zdravlje

One Health – rezistencija ne poznaje granice
između životinja, ljudi i životne sredine



Jedno zdravlje – jedan problem

JEDNO ZDRAVLJE



Većina klasa antibiotika koje se koriste za lečenje ljudi koristi se i kod životinja



Rezistentne bakterije i geni kreću se **unutar i između** sektora – i širom sveta



Jedno zdravlje = zajednički rad lekara, veterinara i stručnjaka za životnu sredinu



Koordiniraju SZO, FAO, Svetska organizacija za zdravlje životinja (WOAH) i UNEP

Prema: McEwen i Collignon, Microbiol Spectr 2018

Životna sredina – rezervoar gena rezistencije

JEDNO ZDRAVLJE

KAKO ANTIBIOTICI I BAKTERIJE DOSPEVAJU U SREDINU



Izlučevine ljudi i životinja (urin, feces) → kanalizacija, stajnjak



Nepravilno odlaganje neiskorišćenih lekova



Akvakultura i biljna proizvodnja – direktna primena



Otpadne vode iz **fabrika antibiotika** (Kina i Indija – najveći proizvođači)



Zemljište, voda, sedimenti

ogromna raznovrsnost bakterija = „rezistom“



nazad ljudima i životinjama: voda, hrana, povrće



ZAPAMTI

Životna sredina verovatno već sadrži gene rezistencije za **sve antibiotike koji će ikada biti razvijeni**.

Faktori koji podstiču nastanak rezistencije



Ljudi i životinje

- **Bezrazložno** propisivanje antibiotika
- **Slobodna prodaja** bez recepta
- **Premala doza** ili **prekratka** terapija



Farme

- **Profilaktičko** davanje zdravim životinjama
- **Masovna medikacija** antibioticima kritično važnim za ljude (cefalosporini III gen., fluorohinoloni)
- **Promoteri rasta** – male doze tovnim životinjama za brži prirast uz manji utrošak hrane



Životna sredina

- Neprečišćen otpad sa farmi, iz naselja i industrije
- Stajnjak i mulj na poljoprivrednom zemljištu



Male doze tokom dugog perioda (promoteri rasta, premalo doziranje) – idealni uslovi za selekciju rezistentnih sojeva

Koji antibiotici se „čuvaju“ – kategorije EMA

A Izbegavati	B Ograničiti	C Oprez	D Razboritost
<i>Nisu odobreni u veterini EU – samo izuzetno, za pojedinačne kućne ljubimce</i> karbapenemi, glikopeptidi, monobaktami, rifamicini (osim rifaksimina)	<i>Samo kada lekovi iz C i D ne deluju – po antibiogramu</i> cefalosporini III i IV gen., polimiksini (kolistin), fluorohinoloni	<i>Kada lekovi iz kategorije D nisu efikasni</i> aminoglikozidi, aminopenicilini + inhibitori β-laktamaza, amfenikoli, cefalosporini I i II gen., makrolidi, linkozamidi	<i>Prvi izbor – ali i dalje samo kada je potrebno</i> penicilini uskog spektra, aminopenicilini, kloksacilin, tetraciklini, sulfonamidi + trimetoprim

EU: antibiotici kao promoteri rasta zabranjeni od 2006. · **SZO (2017):** prestati sa rutinskom upotrebom za podsticanje rasta i prevenciju bolesti kod zdravih životinja

Šta možemo da uradimo

NA NIVOU SISTEMA – JEDNO ZDRAVLJE



Regulativa – antibiotici samo na recept



Nadzor upotrebe i rezistencije kod ljudi, životinja i u hrani



Biosigurnost, higijena i bolji uslovi držanja



Vakcinacija i alternative antibioticima



Prečišćavanje otpadnih voda i stajnjaka

Prema: McEwen i Collignon, *Microbiol Spectr* 2018

VETERINAR

- 1 Antibiotik samo kod **dijagnostikovane** bakterijske infekcije
- 2 Uzorak → izolacija → **antibiogram** pre terapije kad god je moguće
- 3 Prednost lekovima **niže kategorije** (D → C → B)
- 4 **Pravilna doza i trajanje** terapije
- 5 **Prevenција** umesto rutinske profilakse – vakcinacija, biosigurnost
- 6 Objasniti vlasnicima: ne čuvati i ne davati „zaostale“ antibiotike