



# **BAKTERIJE VRAČAJO UDAREC**

**Odpornost proti antibiotikom**

► Marjanca Starčič Erjavec in Darja Žgur Bertok

Zdravnik vam je zaradi okužbe z bakterijo predpisal antibiotik. Poleg tega vam je dejal, da se, če vam čez kak dan ali dva ne bo bolje, še enkrat oglasite pri njem, saj je povsem mogoče, da ste se okužili z bakterijo, ki je pridobila odpornost proti predpisanemu antibiotiku. V tem primeru boste potrebovali drugega.

**L**ETA 1928 JE ŠKOTSKI BIOLOG IN FARMAKOLOG Alexander Fleming odkril penicilin (ŽIT 2015/11, str. 36) – snov, ki povzroči propad bakterije. To odkritje je vodilo do priprave prvega antibiotika, ki so ga začeli uspešno uporabljati za zdravljenje bakterijskih okužb (ŽIT 2014/11, str. 30). Pozneje je farmacevtska industrija odkrila oz. razvila še številne druge antibiotike, tako da smo imeli na voljo široko paleto različnih antibiotikov z različno širokim protibakterijskim delovanjem. Kombinacija uporabe antibiotikov, cepljenja in izboljšanja sanitarnih razmer je vodila do zelo izrazitega zmanjšanja pojavnosti bakterijskih okužb v razvitem svetu, zato je leta 1975 prevladovalo prepričanje, da smo boj z bakterijami v razvitem svetu dokončno dobili. Bili smo na vrhuncu zlate dobe antibiotikov, kot imenujemo obdobje od 50. do 70. let 20. stoletja.

A bakterije so pokazale, da se lahko uprejo delovanju antibiotika, ki tako ne more več uničiti ali ustaviti njihove rasti. Tej sposobnosti rečemo odpornost proti antibiotiku (ŽIT

2014/10, str. 32). Nekatere bakterije so že po naravi odporne proti nekaterim antibiotikom (notranja odpornost), to lastnost pa lahko pridobijo tudi zaradi genetskih sprememb, ki vodijo do nastanka odpornosti (pridobljena odpornost).

Pojav protibakterijskih odpornih bakterij so opazili že leta 1952, torej kmalu po začetku nastopa zlate dobe antibiotikov. A šele v 90. letih smo se zavedeli, da se odpornost proti antibiotikom med bakterijami razširja zelo hitro, zato je Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) leta 2000 izdala opozorilo, da bakterijske okužbe zaradi pridobljene odpornosti proti antibiotikom lahko postanejo problematične za zdravljenje s temi zdravili. In tako se je začelo sistematično spremljanje pojavnosti odpornosti bakterij. Danes ima Evropa široko razporedeno mrežo mikrobioloških laboratorijev, ki zbirajo podatke o odpornosti bakterij in jih nato objavijo v skupnem letnem poročilu o nadzoru nad tem pojavom. Prvo evropsko letno poročilo je bilo objavljeno že leta 2001. Od 1. januarja

☛ **Bakterijske vrste, katerih odpornost prikazuje letno poročilo ECDC o nadzoru odpornosti bakterij proti antibiotikom, in njihov medicinski pomen**

2010 podatke o odpornosti bakterij v Evropi zbira Evropski center za preprečevanje in obvladovanje bolezni (angl. ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control), ki novembra – 18. tega meseca je namreč Evropski dan antibiotikov – izda letno poročilo o nadzoru nad odpornostjo bakterij proti antibiotikom za prejšnje leto. ECDC zbira podatke o odpornosti proti antibiotikom za medicinsko najpomembnejše bakterijske vrste. Od po Gramu nega-

tivnih bakterij so to *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Acinetobacter*, od po Gramu pozitivnih bakterij pa *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* in *Enterococcus*.

Za vse izolate teh bakterijskih vrst, ki jih v mikrobioloških laboratorijih izolirajo iz krvi in možgansko-hrbtenjačne tekočine bolnikov, ECDC zbira podatke o njihovi odpornosti. Z medicinskega vidika so pravi izolati najnevarnejši, saj se okuž-

BAKTERIJSKA VRSTA	MEDICINSKI POMEN BAKTERIJSKE VRSTE
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• najpogosteje izolirana bakterija iz vzorcev krvi in okužb sečil,</li> <li>• povzroča vnetje trebušnice in kože ter mehkih tkiv (tako spontano kot vezano na kirurške operacije),</li> <li>• povzroča vnetje ovojnice možganov/hrbtenjače (predvsem pri novorojenčkih),</li> <li>• je ena od najpogostejših povzročiteljic okužb s hrano po vsem svetu;</li> </ul>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• je povzročiteljica okužb sečil, spodnjih dihal in krvi,</li> <li>• nekateri sevi tudi pri sicer zdravih ljudeh lahko povzročajo težke invazivne okužbe (npr. jeter);</li> </ul>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• je poglavitna povzročiteljica okužb hospitaliziranih bolnikov, ki imajo lokalno ali sistemsko zmanjšano imunost,</li> <li>• povzroča bolnišnične pljučnice (npr. pri bolnikih, priključenih na naprave za umetno dihanje) ter okužbe krvi in sečil,</li> <li>• je pogost povzročitelj okužb kože in vnetja zunanega ušesa pri plavalcih,</li> <li>• pri bolnikih s cistično fibrozo lahko povzroči huda poslabšanja stanja,</li> <li>• je najpogostejši povzročitelj okužb opeklin;</li> </ul>
<i>Acinetobacter spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• rod <i>Acinetobacter</i> vsebuje veliko število vrst, ki sicer veljajo za nizko patogene, a pogosto povzročijo okužbe pri bolnikih z oslabiljeno imunostjo,</li> <li>• povzročajo bolnišnično pljučnico (pri bolnikih, priključenih na naprave za umetno dihanje), okužbe krvi pri bolnikih z žilnimi katetri, pa tudi okužbe sečil ter kirurških in drugih ran;</li> </ul>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• je pogosta povzročiteljica okužb pri necepljenih otrocih, starejših in bolnikih z oslabiljeno imunskim sistemom,</li> <li>• povzroča širok spekter okužb, od okužb zgornjih dihal (angina) do pljučnice, okužb srednjega ušesa ter okužb krvi in ovojnic možganov/hrbtenjače,</li> <li>• je najpogostejši povzročitelj pljučnice po vsem svetu;</li> </ul>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• sevi, ki so odporni proti metilinu (MRSA), so najpogostejši povzročitelji bolnišničnih okužb zaradi odpornih bakterij,</li> <li>• povzročajo okužbe, kot so mozolj, tur in šen, ter druga vnetja kože,</li> <li>• redkeje povzročijo pljučnico, vnetje možganske ovojnice, krvi in sečil, pa še to običajno pri bolnikih z oslabiljeno imunostjo;</li> </ul>
<i>Enterococcus spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• lahko povzročajo številne okužbe – od okužb notranje srčne plasti in krvi do okužb sečil, trebušnice in trebušnih ognjokov.</li> </ul>

## Testiranje bakterij za odpornost proti antibiotikom

V osnovi poznamo dve testni metodi: redčitveni test in difuzijski test.

*Redčitveni test* je kvantitativen in omogoča določitev minimalne inhibitorne koncentracije (MIK), tj. najnižje koncentracije antibiotika, ki v izvedenem testu zavre rast mikroorganizma. MIK izražamo v mikrogramih na mililiter. Test izvedemo tako, da pripravimo redčitveno vrsto protimikrobne snovi. Vsaki koncentraciji protimikrobne snovi dodamo standardno količino bakterij, nato pa jih pri temperaturi 37 °C inkubiramo s stresanjem. MIK določimo po 18–24 urah inkubacije, pri čemer je MIK tista koncentracija antibiotika, pri kateri je gojišče ostalo še čisto prozorno.

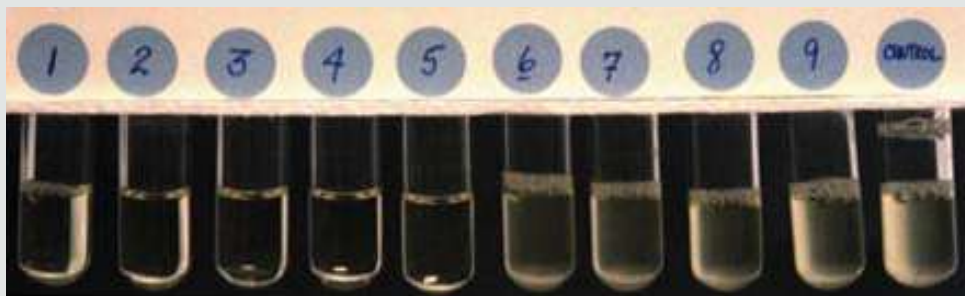
*Difuzijski test* omogoča testiranje samo ene koncentracije antibiotika. V tem testu uporabljamo diske iz filtrskega papirja, prepojene z antibiotikom. Standardiziran vzorec mikroorganizmov cepimo na trdno gojišče, nato pa damo na gojišče še diske z antibiotiki. Ploščo inkubiramo. V tem času protimikrobna snov

z diska difundira v gojišče. Po inkubaciji pregledamo rast bakterij in izmerimo premer območja okoli diska, kjer mikroorganizmi niso porasli (t. i. inhibicijska cona). Iz premera tega območja potem določimo občutljivost ali odpornost mikroorganizma proti določenemu antibiotiku.

*Difuzijski test z gradientom* (E-test) združuje preprostost difuzijskega testa in natančnost določanja redčitvenega testa MIK. Izvedemo ga kot difuzijski test, le da uporabljamo trakce z gradientom koncentracije protimikrobne snovi.



📍 Prikaz difuzijskega testa z diskom z določeno koncentracijo antibiotika (na desni) in z gradientom (E-test) z lističem, v katerem je gradient koncentracije antibiotika (na levi strani plošče); kjer je koncentracija antibiotika dovolj visoka, bakterije ne morejo porasti – in tam je vidna t. i. inhibicijska cona. (Vir: [www.mycology.adelaide.edu.au](http://www.mycology.adelaide.edu.au))



📍 Prikaz redčitvenega testa za določanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIK) antibiotika; koncentracija antibiotika pada od prve do devete epruvete. V zadnji epruveti (control) antibiotika ni, saj je to t. i. kontrola, ki pokaže, da so se bakterije v izvedenem poskusu sploh lahko namnožile. Motnost gojišča nakazuje na rast bakterij. MIK je bila pri tem testu v peti epruveti. (Vir: [www.medschool.lsuhsu.edu](http://www.medschool.lsuhsu.edu))

be krvi in možgansko-hrbtenjačne tekočine namreč lahko razmeroma hitro končajo smrtno, zato je zelo pomembno, da se jih začne čim prej zdraviti z antibiotikom oz. kombinacijo antibiotikov, ki omogoča uspešno zdravljenje.

► **MEHANIZMI ODPORNOSTI ZA POSAMEZNE SKUPINE BAKTERIJ**

V bakterijski vrsti *Escherichia coli* (*E. coli*) je najpogostejša odpornost proti antibiotikom aminopenicilinom, ki jih uvrščamo med betalaktame. Ti antibiotiki delujejo tako, da zavirajo sintezo celične stene bakterij, za to delovanje pa je ključen betalaktamski obroč. Encim, ki omogoča odpornost proti aminopenicilinom, je tako encim betalaktamaza, ki razgradi betalaktamski obroč aminopenicilinov, s čimer antibiotiku onemogoči delovanje. Obstajajo tudi betalaktamaze, ki delujejo na druge skupine betalaktamskih antibiotikov.

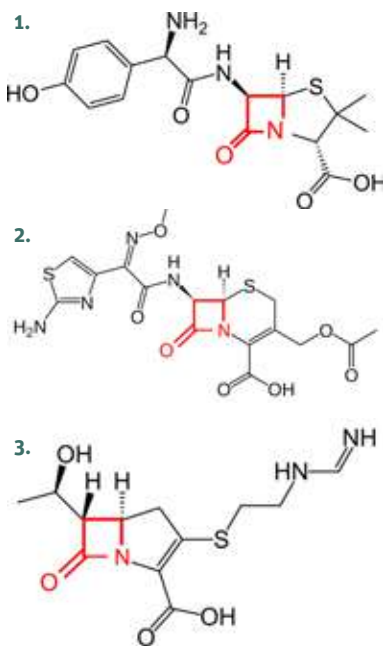
**1. Amoksicilin, betalaktamski antibiotik iz skupine aminopenicilinov, ima značilen betalaktamski obroč (obarvan z rdečo), ki je tarča za encim betalaktamazo. (Vir: Wikipedia)**

**2. Cefotaksim, betalaktamski antibiotik iz skupine cefalosporinov tretje generacije; na betalaktamski obroč tega antibiotika (obarvan z rdečo) delujejo samo betalaktamaze, ki so metalobetalaktamaze ali serinske betalaktamaze. (Vir: Wikipedia)**

**3. Imipenem, betalaktamski antibiotik iz skupine karbapenemov; na betalaktamski obroč tega antibiotika (obarvan z rdečo) delujejo samo betalaktamaze razširjenega spektra. (Vir: Wikipedia)**

Fluorokinoloni so antibiotiki, ki zavirajo delovanje bakterijskih tarčnih encimov DNA-giraze in DNA-topoizomeraze IV. Odpornost proti fluorokinolonom se lahko pojavi zaradi več različnih možnosti. Bakterija lahko pridobi mutacije v delu DNA, kjer sta zapisa za tarčna encima DNA-girazo in DNA-topoizomerazo IV. Tarčna encima se zaradi teh pridobljenih mutacij tako spremenita, da sta še zmeraj dejavna in opravljata svojo nalogo v bakterijski celici, skrbita za pravilno oblikovanje bakterijskega kromosoma, sta pa vendarle tako spremenjena, da se fluorokinoloni ne morejo več vezati nanju, zaradi česar ne delujejo več. Bakterije pa lahko pridobijo odpornost proti tem antibiotikom tudi zaradi sprememb v porinih zunanje membrane. Gre za posebne kanalčke, ki prepuščajo antibiotik, da ta sploh lahko vstopi v celico, a spremenjeni porini potem ne omogočajo več vstopa antibiotika. Bakterije lahko odpornost proti fluorokinolonom pridobijo tudi v naslednjih primerih: če se posebni proteini v membrani bakterijske celice tako spremenijo, da delujejo kot učinkovite črpalke, ki iz celice izločajo molekule antibiotika, preden ta sploh lahko začne delovati; če imajo bakterije posebne proteine – t. i. proteine QNR –, ki encim DNA-topoizomerazo tako zaščitijo, da se antibiotiki ne morejo več vezati nanjo; če ima bakterija encim, ki antibiotik v bakterijski celici tako spremeni, da postane neaktiven – npr. ga acetilira (mu doda acetilno skupino).

Aminoglikozidi so antibiotiki, ki delujejo zaradi svoje vezave na ribosome kot zaviralci bakterijske sinteze proteinov. Tudi pri njih je razlogov za odpornost bakterije proti delovanju antibiotika več: bakte-



rija je lahko tako spremenila svoje ribosome, da se antibiotiki nanje ne morejo več vezati in se vpletati v sintezo bakterijskih proteinov; druga možnost je, da je bakterijska celica sposobna sinteze encimov, ki spremenijo antibiotik –ga npr. acetilirajo, adenilirajo ali fosforilirajo – ter ga s tem inaktivirajo.

Tako kot *E. coli* je tudi bakterija *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) lahko odporna proti več različnim skupinam antibiotikov. Ker pa ima v primerjavi z *E. coli* že sama po sebi v svojem kromosomu gen za eno vrsto betalaktamaze, je s tem že po naravi odporna proti vsem aminopenicilinom. A tudi sicer se pri *K. pneumoniae* lahko zelo hitro pojavijo mehanizmi odpornosti proti drugim antibiotikom. Ti so v osnovi enaki kot pri *E. coli*.

Bakterija *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) je že po naravi odporna proti večini antibiotikov. Po eni strani je njena celična stena manj prepustna za antibiotike, po drugi strani pa ima ta bakterija tudi posebne proteine, t. i. črpalke, ki iz citoplazme izčrpavajo molekule antibiotika, s čimer mu onemogočijo delovanje. Dodatna odpornost proti antibiotikom se lahko pojavi, če se tarčne molekule delovanja antibiotika (npr. topoizomeraze, ribosomski proteini) tako spremenijo, da sicer še vedno v celici opravljajo svojo nalogo, a nimajo več tarčnega mesta za delovanje antibiotika, ali pa bakterija pridobi zapise za encime, ki antibiotike bodisi razgradijo (npr. različne vrste betalaktamaz) ali kako drugače modificirajo, da ne morejo več delovati.

Bakterije iz rodu *Acinetobacter* in še zlasti bakterije iz skupin *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*)

so že po naravi odporne proti večini antibiotikov, ker je njihova celična stena zanje neprepustna. Kljub temu nanje delujejo nekateri antibiotiki iz skupine fluorokinolonov (npr. ciprofloksacin) ter antibiotiki iz skupine aminoglikozidov (npr. gentamicin), karbapenemov (npr. imipenem) in polimiksinov (npr. kolistin). Odpornost proti tem antibiotikom se lahko pojavi iz enakih razlogov, kot so bili navedeni pri bakteriji *P. aeruginosa*.

Odpornost bakterij *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) proti betalaktamskim antibiotikom v nasprotju z doslej obravnavanimi bakterijami ne temelji na betalaktamazah, ampak na spremenjenih bakterijskih proteinih, ki so tarčni proteini za delovanje betalaktamskih antibiotikov. Betalaktamski antibiotiki se tako ne morejo več vezati na spremenjene tarčne bakterijske proteine, zato nehajo delovati. Odpornost proti makrolidom in fluorokinolonom pa lahko temelji na tem, da bakterije pridobijo sposobnost izčrpavanja teh antibiotikov iz celice in tako zmanjšajo njihovo koncentracijo v celici pod raven, ki je potrebna za uspešno delovanje antibiotika, ali pa tako, da spremenijo tarčno mesto, kjer bi antibiotik deloval, da se ta ne more več vezati.

Tudi odpornost bakterij *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) proti meticilinu in vsem drugim betalaktamom temelji na spremenjenih bakterijskih proteinih, ki so tarčni proteini za delovanje betalaktamskih antibiotikov. Odpornost proti rifampinu se pojavi zaradi spremenjenega encima, ki je tarča delovanja antibiotika, to je encim RNA-polimeraza.

Bakterije iz rodu *Enterococcus* so že po naravi odporne proti velikemu številu antibiotikov; med njimi so be-

talaktamski antibiotiki cefalosporini in mnogi drugi betalaktami, antibiotiki, ki zavirajo sintezo nukleinskih kislin – t. i. sulfonamidi in aminoglikozidi (v nizkih koncentracijah). Naravna odpornost proti betalaktamom temelji na tem, da so proteini, ki so normalno tarča za betalaktame, pri enterokokih že tako drugačni, da niso več tarča za te antibiotike. Poleg tega lahko še pridobijo sposobnost

sinteze betalaktamaze ali pa dodatno spremenijo tarčne proteine, kar lahko privede do odpornosti proti višjim koncentracijam antibiotika. Naravna odpornost enterokokov proti aminoglikozidom temelji na nizki prepustnosti bakterijske celične stene za te antibiotike. A poleg te naravne odpornosti, ki ponuja odpornost samo proti nizki koncentraciji antibiotika, lahko sevi pridobijo sposobnost

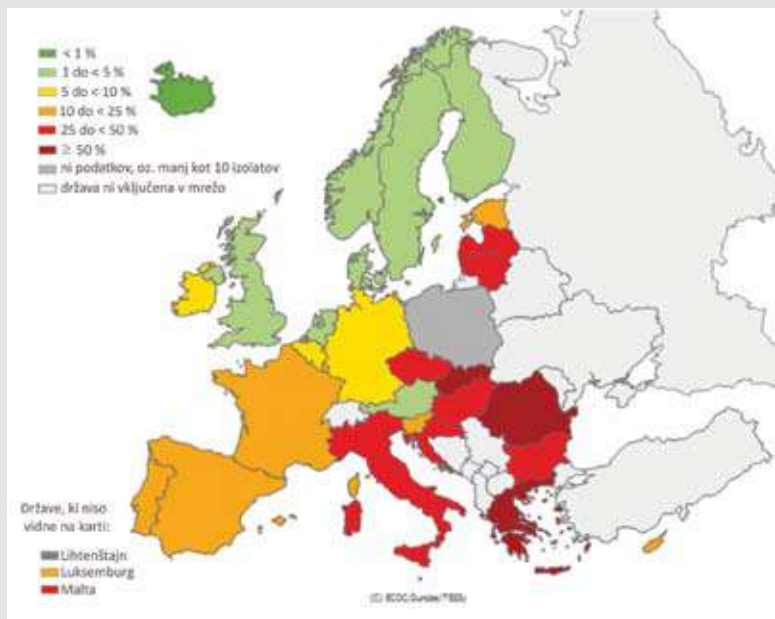
## Primerjava med Slovenijo in povprečjem v EU

Iz letnih poročil ECDC o nadzoru odpornosti bakterij proti antibiotikom je razvidno, da se v EU odstotki odpornih bakterij zelo razlikujejo, pač odvisno od bakterijske vrste, skupine antibiotikov in geografskega položaja države. Za kar nekaj pojavov bakterijske odpornosti proti antibiotikom bi lahko rekli, da obstaja gradient odpornosti od severa proti jugu in od zahoda proti vzhodu. Na splošno

velja, da imajo manjše število odpornih sevov v severnih in zahodnih državah EU, večje število odpornih sevov pa v južnih in vzhodnih državah EU.

Razlogi za to verjetno tičijo v razlikah glede uporabe antibiotikov in njihove dostopnosti, v predpisovanju antibiotikov, nadzoru nad okužbami in praksah v zdravstvenih ustanovah posameznih držav EU.

↻ Odstotek (%) sevov bakterije *Klebsiella pneumoniae*, ki imajo hkratno odpornost proti fluorokinolonom, tretji generaciji cefalosporinom in aminoglikozidom, po posameznih državah EU; na sliki je jasno viden splošni trend odpornosti v EU. Odstotek odpornih sevov se zvišuje od severa proti jugu in od zahoda proti vzhodu. (Vir: [ecdc.europa.eu](http://ecdc.europa.eu))

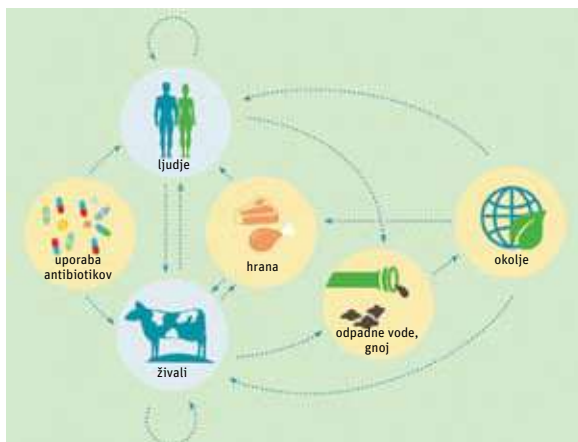


odpornosti proti aminoglikozidom v visoki koncentraciji, npr. ker sintetizirajo encim, ki tako spremeni antibiotik, da ta ne more več delovati.

K pojavu in širjenju odpornosti proti antibiotikom med bakterijami je vodilo in še vedno vodi kar nekaj dejavnikov. V prvi vrsti gre za pretirano in neskrbno uporabo antibiotikov tako v zdravstvu kot tudi v kmetijstvu in pripravi hrane. Kar tretjina vseh bolnikov v bolnišnicah dobi antibiotike, vendar je po nekaterih domnevah vsaj polovica teh predpisanih po nepotrebnem, so slabo izbrani ali nepravilno uporabljeni. V kmetijstvu se antibiotiki uporabljajo za preventivo in pospeševanje rasti živali. Tudi ta uporaba je veliko pripomogla k pojavu odpornih bakterij med živalmi. K večjemu porastu t. i. večkratne odpornosti, ko je posamezna bakterija hkrati odporna proti več različnim antibiotikom, pa je prispevala večinska uporaba antibiotikov s širokim spektrom delovanja. Enako, kot velja globalizacija za nas, velja tudi za bakterije in njihove gene: prehajajo lahko v različna okolja in iz njih.

#### ► SKLEP

V dnevnem časopisju lahko zasledimo prispevke o 'superbakterijah', ki da so odporne proti večini ali celo kar vsem običajnim antibiotikom ter tudi že takšnim (npr. kolistin), ki so namenjeni za skrajne primere. Odpornost bakterij proti antibiotikom tako postaja vse resnejša grožnja za zdravje ljudi v EU. Preudarna raba antibiotikov, obširno preprečevanje bakterijskih okužb in premišljena uporaba strategij nadzora v vseh zdravstvenih ustanovah so tako bistvenega pomena za preprečevanje



pojava ter širjenja odpornosti proti antibiotikom med bakterijami.

In k temu lahko prispeva prav vsak izmed nas.

🌐 Širjenje bakterijske odpornosti (vir: [www.jpia.mr.eu](http://www.jpia.mr.eu))

#### VIRI IN LITERATURA

- M. Starčič Erjavec, N. Gunde-Cimerman, B. Herzog Velikonja: Patogeni mikrobi. Navodila za vaje.
- A. H. Holmes, L. S. Moore, A. Sundsfjord, M. Steinbakk, S. Regmi, A. Karkey, P. J. Guerin, L. J. Piddock: Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016 Jan 9; 387 (10014): 176–87; doi: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0.
- M. Woolhouse, M. Ward, B. van Bunnik, J. Farrar: Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015 Jun 5; 370 (1670): 20140083. doi: 10.1098/rstb.2014.0083.

#### SPLETNI NASLOVI

- [en.wikipedia.org/wiki/Bacteria](http://en.wikipedia.org/wiki/Bacteria)
- [www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/en/)
- [www.cdc.gov/getsmart/community/about/antibiotic-resistance-faqs.html](http://www.cdc.gov/getsmart/community/about/antibiotic-resistance-faqs.html)
- [ecdc.europa.eu](http://ecdc.europa.eu)
- [www.sciencedaily.com/news/plants\\_animals/bacteria/](http://www.sciencedaily.com/news/plants_animals/bacteria/)