

Nove farmakoterapijske mogućnosti liječenja infekcija uzrokovanih ESKAPE patogenima

Jagodić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:646536>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Lucija Jagodić

**Nove farmakoterapijske mogućnosti liječenja
infekcija uzrokovanih ESKAPE patogenima**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2024

Ovaj diplomski rad je prijavljen na Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za farmakologiju pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Petre Turčić.

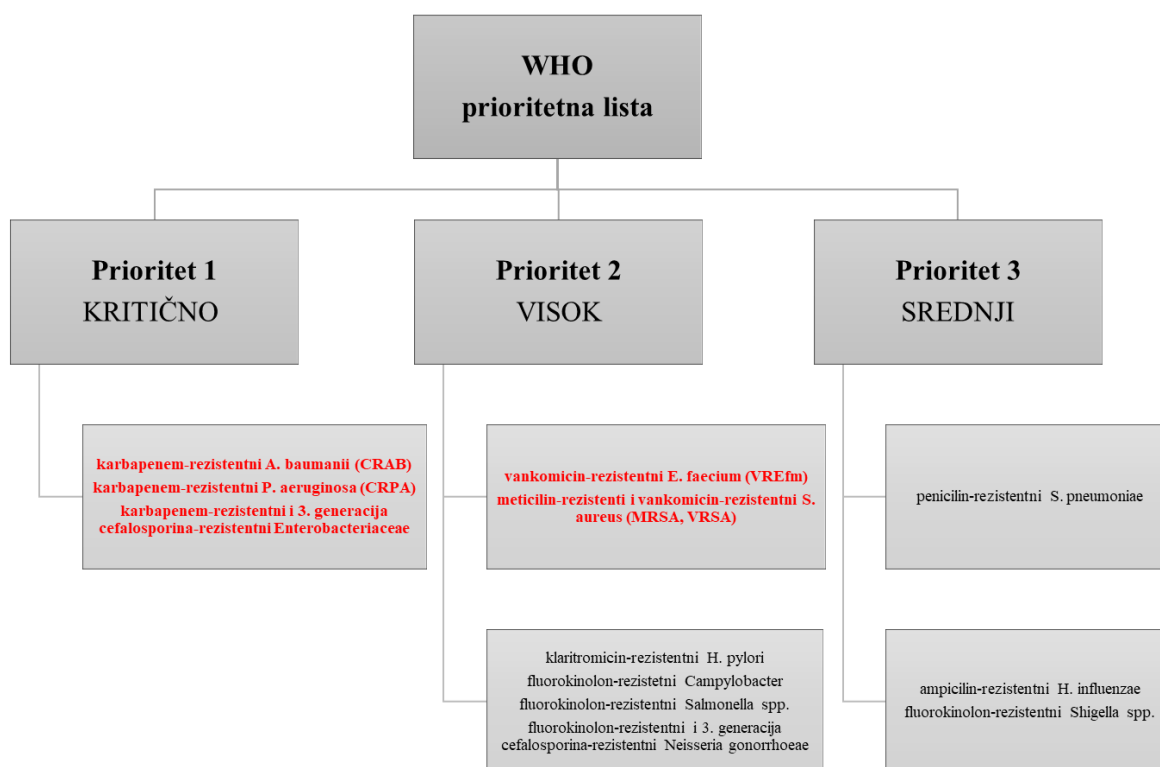
Sadržaj

| | |
|--|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 1.1. ESKAPE bakterije | 2 |
| 1.1.1. Enterococcus faecium | 2 |
| 1.1.1.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 2 |
| 1.1.1.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 2 |
| 1.1.1.3. Rezistentni sojevi | 3 |
| 1.1.2. Staphylococcus aureus | 3 |
| 1.1.2.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 3 |
| 1.1.2.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 4 |
| 1.1.2.3. Rezistentni sojevi | 4 |
| 1.1.3. Klebsiella pneumoniae | 5 |
| 1.1.3.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 5 |
| 1.1.3.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 5 |
| 1.1.4. Acinetobacter baumannii | 6 |
| 1.1.4.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 6 |
| 1.1.4.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 6 |
| 1.1.4.3. Rezistentni sojevi | 7 |
| 1.1.5. Pseudomonas aeruginosa | 7 |
| 1.1.5.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 7 |
| 1.1.5.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 7 |
| 1.1.5.3. Rezistentni sojevi | 8 |
| 1.1.6. Enterobacter spp. | 8 |
| 1.1.6.1. Morfologija, fiziologija i habitat | 8 |
| 1.1.6.2. Patogeneza, imunost i klinička slika | 9 |
| 1.1.6.3. Rezistentni sojevi | 9 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME | 10 |
| 3. MATERIJALI I METODE | 11 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 12 |
| 4.1. Rezistencija na antibakterijske lijekove | 12 |
| 4.2.1. Mehanizmi bakterijske rezistencije | 13 |
| 4.2.1.1. Produkcija enzima koji modificira ili razgrađuje lijek | 14 |
| 4.2.1.2. Promjena afiniteta veznog mjesta na ciljnom proteinu (promjena u strukturi veznog mjesta) | 14 |
| 4.2.1.3. Inhibicija nakupljanja lijeka u bakterijskoj stanici | 15 |
| 4.2.1.4. Dodatni mehanizmi | 15 |
| 4.3. Nozokomijalne infekcije | 16 |
| 4.4. Epidemiološki podaci | 17 |
| 4.4.1. Praćenje osjetljivosti i rezistencije bakterija na antibiotike u Hrvatskoj | 17 |
| 4.4.1.1. Rezistencija bakterijskih izolata u 2021. godini | 18 |
| 4.4.1.2. Rezistencija u invazivnih izolata u 2021. godini | 26 |
| 4.5. Klasifikacija antibakterijskih lijekova | 28 |
| 4.6. Nove terapijske mogućnosti u liječenju infekcija uzrokovanih ESKAPE patogenima | 32 |
| 4.6.1. Novoregistrirani lijekovi i lijekovi u fazama razvoja | 33 |
| 4.6.1.1. Plazomicin (Zemdri) | 33 |
| 4.6.1.2. Eravaciklin (Xerava) | 33 |
| 4.6.1.3. Omadaciklin (Nuzyra) | 33 |
| 4.6.1.4. Lefamulin (Xenleta) | 34 |
| 4.6.1.5. Lascufloksacin (Lasvic) | 34 |
| 4.6.1.6. Cefiderokol (Fetroja) | 34 |

| | |
|--|----|
| 4.6.1.7. Murepavadin (POL7080) | 34 |
| 4.6.1.8. Brilacidin | 35 |
| 4.6.1.9. Analози polimiksina – SPR206 i SPR741 | 35 |
| 4.6.2. Kombinacija više lijekova | 35 |
| 4.6.2.1. Adjuvantni lijekovi klase I | 35 |
| 4.6.2.2. Adjuvantni lijekovi klase II | 38 |
| 4.6.3. Alternativne mogućnosti | 39 |
| 4.6.3.1. Prenamjena postojećih lijekova | 40 |
| 4.6.3.2. Bakteriofagi | 40 |
| 4.6.3.3. Monoklonska protutijela | 42 |
| 4.6.3.4. Cjepivo | 44 |
| 4.6.3.5. Modulacija i transplantacija fekalne mikrobiote (FMT strategija) | 44 |
| 4.6.3.6. Nanočestice srebra i drugi metalni agensi | 45 |
| 4.6.3.7. Fotodinamička terapija | 47 |
| 4.6.3.8. Inhibicija formacije biofilma i produkcije čimbenika virulencije (anti-QS agensi) | 49 |
| 4.7. Strategije u borbi protiv rezistencije | 52 |
| 4.8. Uloga ljekarnika | 53 |
| | |
| 5. ZAKLJUČCI | 55 |
| | |
| 6. POPIS KRATICA, OZNAKA I SIMBOLA | 57 |
| | |
| 7. LITERATURA | 61 |
| | |
| 8. SAŽETAK/SUMMARY | 73 |
| | |
| TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA | 74 |

1. Uvod

Rezistencija bakterija na antibakterijske lijekove globalni je javnozdravstveni problem. Unatoč značajnim napredcima u različitim poljima medicine, infektivne bolesti su i dalje veliki izazov s kojim nas tek čeka ozbiljno suočavanje. Naročito je alarmantan porast infekcija uzrokovanih višestrukorezistentnim bakterijama (*engl. Multi Drug Resistant – MDR*) čije je liječenje znatno otežano zbog sve manjeg broja učinkovitih antibiotika na raspolaganju. Iz navedenog proizlazi činjenica da je ishod liječenja takvih infekcija često nepovoljan, a uz to značajno utječe i na porast troškova jer produkuje duljinu trajanja liječenja/hospitalizacije. Takve višestrukorezistentne bakterije okrunjene su akronimom ESKAPE, a sve se nalaze na listi prioriteta Svjetske zdravstvene organizacije (*engl. World Health Organization - WHO*) s ciljem što bržeg otkrića i razvoja novih antibiotika, budući da predstavljaju globalnu prijetnju za zdravlje (www.who.int).



Slika 1. Lista Svjetske zdravstvene organizacije - kritični patogeni razvrstani u 3 kategorije prioriteta s ciljem razvoja novih lijekova (crveno označeni sojevi ESKAPE patogena)

Najčešće su uzročnici tzv. bolničkih/nozokomijalnih infekcija (*engl. Hospital Acquired Infections ili Healthcare Associated Infections*), što predstavlja veliki izazov ne samo u području biomedicine, već i ekonomije. Infekcije uzrokovane rezistentnim bakterijama godišnje odnesu oko 700 000 života, a procjenjuje se da će se ta brojka do 2050. godine popeti na preko 10 milijuna smrti godišnje (O'Neill 2014; Aslam i sur., 2018).

1.1. ESKAPE bakterije

1.1.1. Enterococcus faecium

1.1.1.1. Morfologija, fiziologija i habitat

Bakterije roda *Enterococcus* su gram-pozitivni koki, koji se mogu pojavljivati pojedinačno, u parovima ili u kraćim i duljim lancima. Kod ljudi je najčešće izoliran *E. faecalis*, dok mu po učestalosti slijedi *E. faecium*. Obje vrste dio su mikrobiote probavnog sustava čovjeka, a moguće i drugih organskih sustava – genitourinarni sustav, usna šupljina, koža – posebice perianalno područje (Kalenić i sur., 2019; Fisher i Phillips, 2009).

U odnosu na streptokoke (u čiji su rod ranije bili klasificirani), enterokoki su otporniji na vanjske čimbenike i mogu preživjeti izlaganje ekstremnim temperaturama, pH i visokim koncentracijama soli zbog čega su široko rasprostranjeni u prirodi – biljkama, tlu, vodi, hrani, životinjama (Kalenić i sur., 2019; Fisher i Phillips 2009).

1.1.1.2. Patogeneza, imunost i klinička slika

Unatoč tome što nisu visokovirulentni, prepoznati su kao uzročnici infekcija i u bolnicama i izvanbolničkim sredinama. Smatraju se oportunističkim patogenima, a u različite organske sustave dospjevaju upravo iz probavnog sustava (Kalenić i sur., 2019).

Klinički značajne infekcije koje mogu uzrokovati su infekcije mokraćnog sustava, krvi (bakterijemije), endokarda (posebice kod hematoloških bolesnika s oštećenim srčanim zaliscima), rana ili moždanih ovojnica. Rizične skupine su (hospitalizirani) imunokompromitirani pacijenti, pacijenti s kroničnim bolestima i starija populacija (Fisher i Phillips 2009; Kalenić i sur., 2019).

Sredinom 70-ih godina prošlog stoljeća enterokoki su prepoznati kao uzrok bolničkih infekcija gdje je prijenos patogena moguć s pacijenta na pacijenta, preko medicinskog osoblja

ili preko medicinske opreme kontaminirane patogenom (npr. invazivna pomagala poput vaskularnih ili peritonealnih katetera), iako se pokazalo da je većina infekcija uzrokovana enterokokima koji su dio endogene mikrobiote. Dobar su primjer bakterija koje su od bezazlenih postale medicinski značajni, višestrukorezistentni bolnički patogeni u samo nekoliko desetaka godina (Kalenić i sur., 2019).

1.1.1.3. Rezistentni sojevi

Enterokoki imaju intrinzičnu (urođenu) slabiju osjetljivost na peniciline i aminoglikozide (Kalenić i sur., 2019).

Do problema dolazi pojavom vankomicin-rezistentnog enterokoka (*E. faecalis*) (VRE) i vankomicin-rezistentnog *E. faecium* (VRE_{fm}) koji nisu virulentniji od osjetljivog enterokoka, ali liječenje, odnosno pronalazak adekvatne antimikrobne terapije, zahtijeva veće napore dok je ishod liječenja često nepovoljan. Glikopeptidni antibiotik vankomicin je do pojave rezistencije pokazivao pozitivne ishode u liječenju infekcija uzrokovanih enterokokima (Cetinkaya i sur., 2000). Pokazalo se da veći rizik za infekciju VRE/VRE_{fm}-om imaju pacijenti koji su već bili izloženi vankomicinu ili sličnim glikopeptidnim antibioticima, ali ne samo njima, već i cefalosporinima, fluorokinolonima i nekim drugim širokospektralnim antibakterijskim lijekovima poput metronidazola, klindamicina i imipenema (Harbarth i sur., 2002).

Većinu bolničkih VRE možemo povezati s brojnim Van operon varijantama, međutim pokazalo se da su najčešće, a time i klinički najznačajnije varijante, VanA i VanB operoni, koji kodiraju za ligazu. Takva ligaza mijenja stukturu veznog mjesta važnog za vezanje vankomicina, što se pokazalo ključnim za djelovanje lijeka (Arthur i sur., 1996).

Dodatnu važnost enterokokima daje njihova sposobnost da prenose gene za rezistenciju na druge gram-pozitivne patogene, kao što je primjerice meticilin-rezistentni *S. aureus* (MRSA) (Kalenić i sur., 2019).

Među važnijim čimbenicima virulencije treba istaknuti sposobnost stvaranja biofilma, što dodatno otežava borbu s infekcijama uzrokovanim ovim patogenom i to naročito onih povezanih s ugradnjom ili prisutnošću nekog stranog materijala (Kalenić i sur., 2019).

1.1.2. Staphylococcus aureus

1.1.2.1. Morfologija, fiziologija i habitat

Staphylococcus aureus ima morfologiju gram-pozitivnih koka. Svoj je naziv (aureus – zlatni) dobio zbog formiranja nakupina koje mogu postati žućkaste/zlatne boje nakon prekoćne inkubacije. Na površini stanične stijenke ima polisaharidnu kapsulu koja značajno pridonosi patogenosti. *S. aureus* se dosta lako adaptira na promjene životnih uvjeta – osjetljiv je na povišenu temperaturu i dezinficijense, međutim na suhim površinama može preživjeti jako dugo, a osobito lako stječe rezistenciju na antibiotike. Široko je rasprostranjen u okolišu, a česti je kolonizator ljudske kože i sluznica – osobito vestibuluma nosa, perianalne regija te crijeva (Kalenić i sur., 2019).

1.1.2.2. Patogeneza, imunost i klinička slika

Klinički značajne infekcije koje uzrokuje su infekcije endokarda, kože i mekih tkiva - često kod kirurških rana, osteoartikularne infekcije (osteomijelitis), a može uzrokovati i pneumoniju i bakterijemiju (De Oliveira i sur., 2020). Više od 50% bakterijemija nastaje nakon kirurških zahvata ili su povezane s uporabom intravaskularnih katetera. *S. aureus* sam po sebi nije jako infektivan, ali ozljede i strana tijela mu olakšavaju pristup drugim organskim sustavima (Kalenić i sur., 2019).

1.1.2.3. Rezistentni sojevi

Rezistencija na penicilin G javila se vrlo brzo nakon uvođenja penicilina tijekom 2. svjetskog rata kao odgovor bakterija na velike količine korištenog penicilina G. Produkcija penicilinaza karakterizirala je većinu tada analiziranih izolata. Penicilinaza je bakteriji pomagala u razaranju beta-laktamskog prstena penicilina, a kodirana je genom blaZ koji se nalazi na plazmidu (Harkins i sur., 2017).

Ubrzo nakon kao odgovor na rastuću rezistenciju na penicilin G, razvijen je meticilin koji je trebao biti otporan na djelovanje penicilinaza, međutim na njega se rezistencija razvila i prije ulaska u kliničku uporabu te su okarakterizirani sojevi meticilin-rezistentnog *S. aureus* (engl. methicillin-resistant *S. aureus* - MRSA). Danas pod pojmom MRSA podrazumijevamo sojeve rezistentne ne samo na meticilin, već i na sve ostale beta-laktamske antibiotike čija je rezistencija kodirana genima *mecA* i *mecC* koji su locirani na genomskom otočiću nazvanom stafilokokna kromosomska *mec* kasetna (engl. *SCCmec* – *Staphylococcal cassette chromosome mec*) (Ito i sur., 2014).

MRSA sojeve najčešće vežemo uz bolničke infekcije (engl. *hospital associated* – *HA-MRSA*), ali mogući su i izvanbolnički rezistentni sojevi koje uglavnom vežemo za ljude bez

većih čimbenika rizika (nedavno korištenja antibiotika, boravak u bolnici ili kronične bolesti) – tzv. community-acquired MRSA (CA-MRSA). *S. aureus* je ubikvitarna bakterija, a među ljudima se širi izravnim ili neizravnim dodirrom (aerosol, suhe površine i predmeti), stoga visoka stopa MRSA sojeva ne čudi (Kalenić i sur., 2019).

Početakom 21. stoljeća detektiran je u Americi prvi soj *S. aureus* rezistentan na vankomicin – vankomicin-rezistentan *S. aureus* (*engl. vankomycin-resistant S. aureus - VRSA*), što se proširilo i u Europu (Chang i sur, 2003).

1.1.3. Klebsiella pneumoniae

1.1.3.1. Morfologija, fiziologija i habitat

Klebsiella pneumoniae oportunistički je gram-negativni štapić koji spada u rod enterobakterija (Enterobacterales). Široko je rasprostranjena u prirodi – u tlu, vodi, biljkama, ali i kao dio mikrobiote u probavnom sustavu čovjeka. Zbog jednostavnih zahtjeva za rast, lako se izolira iz kliničkih uzoraka, a značajan čimbenik virulencije je kapsula (Kalenić i sur., 2019).

1.1.3.2 Patogeneza, imunost i klinička slika

Kod zdravih ljudi uglavnom ne uzrokuje bolest, ali kao oportunist često uzrokuje infekcije kod pacijenata s oslabljenim imunim sustavom, novorođenčadi i starijih, što se naročito često događa u bolnicama, stoga i ovu bakteriju vežemo uz pojavu infekcija povezanih s bolničkom skrbi (Kalenić i sur., 2019).

Primarni je patogen u mokraćnom i dišnom sustavu (nekrotizirajuća pneumonija), a kao oportunist uzrokuje postoperativne infekcije, sepsu i meningitis i to naročito često kod novorođenčadi u jedinici intenzivnog liječenja (JIL) (Kalenić i sur., 2019). Što se tiče bolničkih infekcija, najučestalije su infekcije genitourinarnog trakta, i to uglavnom kod kateteriziranih pacijenata (Chung, 2016).

1.1.3.3 Rezistentni sojevi

K. pneumoniae intrinzično je rezistentna na ampicilin. U liječenju infekcije uzrokovane ovim patogenom, nužno je napraviti test osjetljivosti jer su bolnički sojevi stekli visoku rezistenciju na brojne klase antibiotika (Kalenić i sur., 2019).

Naročito su ozbiljna prijetnja višestruko-rezistentni (MDR) sojevi koji proizvode β -laktamaze proširenog spektra (*engl. extended spectrum β -lactamases, ESBL*) (Wyres i sur.,

2020). Dodatni je problem i činjenica da se geni koji kodiraju za ESBL prenose putem plazmida između bakterija različitih vrsta čime se među različitim vrstama bakterija osigurava rezistencija na značajne skupine antibiotika - peniciline, cefalosporine, ali i aminoglikozide, tetracikline, kloramfenikol, sulfametoksazol + trimetoprim. Time se značajno otežava liječenje infekcija uzrokovanih ESBL pozitivnim sojevima (Kalenić i sur., 2019; Abram i sur., 2018).

Lijekovi izbora bili su karbapenemi, međutim sve je prisutnija i karbapenemska rezistencija, odnosno produkcija karbapenemaza (klase A - KPC, B – VIM, IMP, NDM i D – OXA-23, OXA-24/40, OXA-48; najznačajnije) u pojedinim izolatima *K. pneumoniae*, ali i drugim članovima porodice enterobakterija. Karbapenemaze općenito su dosta problematične jer ne hidroliziraju samo karbapeneme nego i većinu β -laktamskih antibiotika, a uz to nisu osjetljive ni na jedan dostupni inhibitor β -laktamaze (Kalenić i sur., 2019; Bedenić i sur., 2014).

1.1.4. *Acinetobacter baumannii*

1.1.4.1. Morfologija, fiziologija i habitat

U rod *Acinetobacter* ubrajamo aerobne, nepokretne (*grč. acinetos – nepokretan*) gram-negativne kokobacile, prisutne u tlu i vodi, a moguće i kao dio normalne flore kože i sluznica u ljudi. Najčešće izolirana vrsta je *A. baumannii* koja je uzročnik različitih infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi, a u zadnje vrijeme privlači dosta pozornosti zbog izrazitog porasta učestalosti, uključujući i porast stopa učestalosti u JIL (Kalenić i sur., 2019).

1.1.4.2. Patogeneza, imunost i klinička slika

Zahvaća najčešće respiratorni (pneumonija) i urinarni trakt (naročito u kateteriziranih pacijenata), a može uzrokovati infekcije rana te sepsu (npr. postoperativno) (Kalenić i sur., 2019).

Bakterija je izuzetno prilagodljiva nepovoljnim uvjetima okoliša stoga lako preživljava na različitim površinama, a njena se prilagodba pripisuje izrazito brzo mutirajućem genomu (Abram i sur., 2018).

Čimbenici rizika za infekciju *A. baumannii* su duga hospitalizacija (osobito u JIL), strojna ventilacija, kirurški zahvati, invazivne procedure i imunokompromitiranost (Kalenić i sur., 2019).

1.1.4.3. Rezistentni sojevi

Ove su bakterije prirodno (intrinzično) rezistentne na mnoge antibiotike (β -laktami, aminoglikozidi), uz to vrlo lako stječu rezistenciju i na ostale, a višestruka rezistencija naročito otežava terapijske mogućnosti/ishode (Kalenić i sur., 2019). Najviše je zabrinjavajuća pojava sojeva rezistentnih na karbapeneme koji su se smatrali zadnjom opcijom u liječenju infekcija – engl. carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB).

S obzirom da infekcije *A. baumannii* gotovo pa isključivo vežemo uz pojavu intrahospitalnih infekcija, važno je voditi računa o bolničkim mjerama prevencije/kontrole infekcije, počevši od osoblja pa sve do pribora i okoline (Kalenić i sur., 2019).

Iako je infekcija ovom bakterijom u odnosu na druge ESKAPE patogene rijetka, prema podacima ECDC-a o antimikrobnoj rezistenciji na području EU/EEA u 2021. godini, postotak MDR izolata raste iz godine u godinu, a isti trend prati i Hrvatska prema podacima Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u RH u 2021. godini.

1.1.5. Pseudomonas aeruginosa

1.1.5.1. Morfologija, fiziologija i habitat

Bakterije roda *Pseudomonas* aerobni su pokretni gram-negativni štapići, složena skupina oportunističkih patogena često prisutnih u okolišu – vodi, tlu, vegetaciji. Klinički najznačajnija i najčešće izolirana vrsta je *Pseudomonas aeruginosa*, čije ime dolazi od grčkih riječi pseudo – lažan i monas – jedinka te latinske riječi aeruginosus – pun bakrene hrđe/zelen (Kalenić i sur., 2019).

1.1.5.2. Patogeneza, imunost i klinička slika

Pseudomonas aeruginosa zbog svoje izrazite sposobnosti invazije, prilagodljivosti i brojnih čimbenika virulencije i toksičnosti, predstavlja tipičnog oportunističkog patogena koji je česti uzročnik infekcija kod pacijenata s oslabljenim imunim sustavom. U skladu s navedenim, jedan je od najčešćih uzročnika infekcija povezanih s hospitalizacijom, a zbog rezistencije na brojne klase antibakterijskih lijekova, liječenje infekcija je otežano (Kalenić i sur., 2019.).

Infekcije koje uzrokuje *P. aeruginosa* mogu zahvatiti praktički bilo koji organski sustav: dišni sustav, središnji živčani sustav (meningitis, apsces), uho (upale vanjskog i srednjeg uha), oko (ulceracije i keratitis), koža i meka tkiva te kosti i zglobovi, endokard (infektivni endokarditis), mokraćni sustav, a mogu uzrokovati i bakterijemiju i sepsu. Osim hospitaliziranih, imunokompromitiranih pacijenata, rizične skupine su i intravenski ovisnici, bolesnici sa srčanim zatajenjem, starija populacija, kateterizirani pacijenti (Kalenić i sur., 2019.)

Karakteristike *Pseudomonasa* koje mu daju na važnosti u uzrokovanju infekcija su ponajprije njegova sposobnost da preživljava u različitim tekućim medijima – sapuni, dezinficijensi, tekućine za ispiranje, otopine za dijalizu, ovlaživači zraka, sanitarni odvodi, kade, (javni) bazeni i mnogi drugi izvori. Osim toga, *P. aeruginosa* može biti dio mikrobiote ljudskog probavnog sustava, iako je takvo stanje rijetko i uglavnom prolazno. Osim GIT-a, može kolonizirati i druge vlažne dijelove ljudskog tijela poput ždrijela, sluznice nosa ili pazušnog područja (Kalenić i sur., 2019).

1.1.5.3. Rezistentni sojevi

Osim navedenog, već spomenuta intrinzična rezistencija na brojne klase antibakterijskih lijekova, ali i dodatni mehanizmi stjecanja otpornosti na lijekove te čimbenici virulencije i plastičnost (adaptivnost) njegova genoma, doprinose lakom nastanku izrazito rezistentnih sojeva (Kalenić i sur., 2019.). Na bakterijskom kromosomu nalaze se geni koji kodiraju za klinički značajne AmpC β -laktamaze, cefalosporinaze koje posreduju u razvoju rezistencije na cefazolin, cefoksitin i većinu penicilina (u kombinaciji ili bez inhibitora β -laktamaze). Za liječenje takvih infekcija obično se mogu koristiti karbapenemi, međutim sve je učestalija pojava izolata rezistentnih i na karbapeneme – engl. carbapenem-resistant *P. aeruginosa* (CRPA) (Jacoby, 2009; Botelho i sur., 2019).

1.1.6. Enterobacter spp.

1.1.6.1. Morfologija, fiziologija i habitat

Vrste roda *Enterobacter* fakultativni su gram-negativni pokretni bacili. Dio su crijevne mikrobiote čovjeka i životinja, a pojavljuju se u gotovo svim okolišnim staništima – tlo, voda, biljke. Klinički značajni uzročnici infekcija povezanih sa zdravstvenom skrbi su *Pseudomonas aerogenes* (prije *Enterobacter aerogenes*), *E. cloacae* i *E. hormaechei*. Spadaju u porodicu

oportunističkih enterobakterija (Enterobacterales). Kao i većina enterobakterija, razvili su otpornost na različite antimikrobne lijekove, a njihovo širenje u bolničkoj sredini uvelike se može smanjiti pridržavanjem strogih higijenskih mjera (Kalenić i sur., 2019).

1.1.6.2. Patogeneza, imunitet i klinička slika

Često je u ovih bakterija prisutan MDR fenotip, što ne čudi s obzirom na njihovu izrazitu sposobnost adaptacije bolničkom okolišu, ali i mogućnosti stjecanja gena koji utječu na rezistenciju. Genima u kromosomima kodirane su klinički važne cefalosporinaze, ESBL i karbapenemaze (Guerin i sur, 2015).

Uzrokuju infekcije urinarnog trakta, krvi, neonatalnu pneumoniju, infekcije kože i mekih tkiva, endokarditis (Davin-Regli i Pages, 2015).

Rizične skupine za infekciju su imunokompromitirani pacijenti – neonatalne dobi, nedonoščad, pacijenti sa šećernom bolešću, pacijenti s opekotinama ili drugim traumama, kao i kateterizirani ili intubirani pacijenti (Biendo i sur., 2008).

4.1.6.3 Rezistentni sojevi

Do razvoja rezistencije može doći ukoliko dođe do promjene u ekspresiji porina koji se nalazi u stijenci bakterije i kroz koji antibakterijski lijek ulazi u bakterijsku stanicu (npr. Omp35 se zamijeni sa Omp36), zatim redukcijom produkcije porina ili nekom drugom promjenom u strukturi porina (Masi i sur, 2017), što za posljedicu ima rezistenciju na β -laktamske klase antibiotika poput cefalosporina (3. generacije) i karbapenema. Dodatno, često takvi sojevi proizvode već spomenute cefalosporinaze (AmpC), karbapenemaze i ESBL čime se β -laktamska rezistencija potencira.

2. **Obrazloženje teme**

Rezistencija bakterija na antibakterijske lijekove složeni je zdravstveni problem današnjice, a vjerojatno još i veći budućnosti koja slijedi. Antibakterijski lijekovi su među najvažnijim lijekovima već godinama, razvijeni s ciljem liječenja infekcija i sprječavanjem njihovih težih komplikacija. Iz tog razloga otkriće penicilina smatra se jednom od prekretnica u medicinskoj povijesti, a 20. stoljeće često naziva „početkom antibiotske ere“. Od tad razvijen je velik broj antibakterijskih lijekova koji su imali značajnu ulogu u smanjenju smrtnosti i općenitom poboljšanju kvalitete i trajanja ljudskih života. Zbog brojnih pozitivnih učinaka antibakterijskih lijekova došli smo u situaciju da se propisuju iracionalno: prečesto, a nerijetko nepotrebno ili pogrešno, na što su bakterije odgovorile stvaranjem višestrukorezistentnih sojeva. Kako bismo se što učinkovitije mogli boriti s njima, od presudne je važnosti što bolje razumijevanje mehanizama njihove virulencije i rezistencije.

Svrha ovog rada je istaknuti višestrukorezistentne bakterije udružene pod akronimom ESKAPE, prikazati dostupne, trenutno učinkovite lijekove i nove mogućnosti (farmako)terapije te pokušati doći do zaključka kako se nositi s brojnim izazovima koji nas tek čekaju u borbi s bakterijskim infekcijama.

3. Materijali i metode

Prilikom izrade diplomskog rada proučavana je stručna i znanstvena literatura pretraživanjem bibliografskih baza podataka kao što su PubMed, Medscape, ScienceDirect, Hrčak te drugih dostupnih stručnih i znanstvenih članaka. Baze su pretraživane prema ključnim riječima i njihovim kombinacijama: ESKAPE pathogens, antimicrobial resistance, Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter spp., multi drug resistance, MRSA, VRE, antibiotic alternatives, photodynamic therapy, phage, silver nanoparticles. Korišteni su i stručni udžbenici iz područja farmakologije i mikrobiologije. Za izradu diplomskog rada korišten je program Microsoft Office Word i Excel.

4. Rezultati i rasprava

4.1. Rezistencija na antibakterijske lijekove

Antimikrobna rezistencija (*engl. antimicrobial resistance - AMR*) odnosno otpornost, sposobnost je mikroorganizama da rastu unatoč visokim koncentracijama nekog antimikrobnog lijeka (Brauner i sur., 2016). Analogno tome, kod bakterija govorimo o rezistenciji na antibakterijske lijekove, odnosno otpornosti bakterija na baktericidno ili bakteriostatsko djelovanje lijeka u koncentracijama koje se mogu postići u organizmu čovjeka (Kalenić i sur., 2019).

Rezistenciju možemo podijeliti na primarnu (urođena ili intrinzična) te sekundarnu (stečena).

Primarna, urođena ili intrinzična rezistencija posljedica je nekih strukturnih ili funkcionalnih značajki bakterije koje joj omogućuju da neki antibakterijski lijek na nju jednostavno ne djeluje. Najbolji su primjer gram-negativne bakterije koje imaju lipopolisaharidnu membranu oko stanične stijenke. Lipopolisaharidna membrana sprječava prolaz molekula do bakterijske stanice te je on moguć jedino kroz porine, posebne kanale o čijoj strukturi ovisi kakvoj će molekuli prolaz biti omogućen. Drugi je primjer malo općenitiji, a to je nemogućnost djelovanja β -laktamskih ili glikopeptidnih antibiotika na bakterije bez stanične stijenke, s obzirom da je meta djelovanja navedenih antibiotika upravo stanična stijenka. Primarna rezistencija diktira podjelu antibiotika na one užeg ili šireg spektra djelovanja – aminoglikozidi djeluju samo na aerobne bakterije pa su primjer antibiotika uskog spektra, dok su tetraciklini primjer antibiotika širokog spektra djelovanja (Kalenić i sur., 2019).

Sekundarna ili stečena rezistencija nastaje kao posljedica mutacija bakterijskog genoma, horizontalnim prijenosom gena za rezistenciju (transformacijom, transdukcijom ili konjugacijom) ili slučajno. Za takvu je rezistenciju karakteristično da bakterija koja je u početku bila osjetljiva na neki antibiotik, nakon nekog vremena na njega postane otporna (Kalenić i sur., 2019). Najslikovitiji primjer je *S. aureus* - gram-pozitivna bakterija koja je prirodno osjetljiva na gotovo sve antibiotike, ali je isto tako veoma sposobna brzo steći gene za rezistenciju i uzrokovati infekcije u gotovo epidemijskim razmjerima (soj MRSA) (Chambers i Deleo, 2009).

Valja napomenuti da je nastanak bakterijske rezistencije na antibiotike prirodni, a ne moderni fenomen, odnosno odgovor bakterije i njezina prilagodba na promjene u okolišu, što se događa već tisućljećima. Isto je i dokazano sekvenciranjem bakterijskih genoma starih nekoliko desetaka tisuća godina pronađenih u ledenjacima, gdje su analizom pronađeni geni za otpornost na nekoliko klasa danas poznatih antibiotika (D'Costa i sur., 2011).

Bez obzira na navedeno, vjerojatno najznačajniju ulogu u rezistenciji danas svakako ima neracionalna uporaba antibiotika, ali značajan doprinos čini i velika prisutnost antibiotika u okolišu, što sve skupa posljedično dovodi do selektivnog pritiska na bakterije i sve veće pojavnosti AMR.

4.2.1. Mehanizmi bakterijske rezistencije

Bakterije su razvile brojne mehanizme rezistencije koje možemo podijeliti u nekoliko kategorija:

- produkcija enzima koji modificira ili razgrađuje lijek
- promjena afiniteta veznog mjesta na ciljnom proteinu (promjena u strukturi veznog mjesta)
- inhibicija nakupljanja lijeka u bakterijskoj stanici.

Bakterijska rezistencija može biti posljedica mutacije ili može biti stečena horizontalnim prijenosom gena. Horizontalni prijenos gena bitan je jer omogućuju veliku varijabilnost bakterija, a time i lakšu adaptaciju na promjene u okolišu bitne za preživljavanje bakterije. Geni se horizontalno mogu prenijeti na tri načina: transformacijom, transdukcijom i konjugacijom (Kalenić i sur., 2019).

Transformacijom se u bakterijsku stanicu prenose veći dijelovi DNA iz okoline. Nakon što uđe u bakterijsku stanicu pomoću pila tipa IV, DNA se rekombinira s homolognim dijelom DNA stanice domaćina. Ovaj se proces događa često jer u prirodnim uvjetima uvijek u okolini bakterije postoje i raspadnute bakterije iste vrste, odnosno fragmenti njihovih makromolekula – tako primjerice i plazmid. U prirodnim uvjetima prijenos DNA fragmenta transformacijom odvija se samo između bakterija iste vrste (Kalenić i sur., 2019).

U procesu transdukcije važnu ulogu imaju bakteriofagi, virusi koji inficiraju isključivo bakterije (Kalenić i sur., 2019).

Procesom konjugacije prenosi se plazmid iz jedne bakterije u drugu. Plazmidi mogu biti specifični za određenu vrstu bakterija, međutim mogu se prenositi i između različitih bakterijskih vrsta. Na ovaj se način među bakterijskim vrstama šire geni rezistencije na antibiotike (*engl. antibiotic resistance genes – ARG*) (Kalenić i sur., 2019).

4.2.1.1. Produkcija enzima koji modificira ili razgrađuje lijek

Određene bakterije posjeduju enzime koji mogu razgraditi ili modificirati lijek i tako onemogućiti njegovo djelovanje. Ovaj je mehanizam rezistencije najznačajniji za β -laktamske antibiotike, aminoglikozide i kloramfenikol (acetiltransferaza).

Poznato je nekoliko stotina različitih β -laktamaza, od kojih su neke vrlo specifične za penicilinske supstrate (npr. β -laktamaza koju proizvodi *S. aureus* ili *E. coli*), dok neke imaju sposobnost hidrolize i penicilina i cefalosporina (AmpC β -laktamaza koju proizvodi *P. aeruginosa* ili *Enterobacter* spp. te ESBL kod enterobakterija). Karbapenemi su otporni na hidrolizu penicilinazama i cefalosporinazama, ali ih hidroliziraju metalo- β -laktamaze i karbapenemaze (Beauduy i Winston, 2020). Ovaj je mehanizam naročito važan za gram-negativne ESKAPE patogene koji na ovaj način hidroliziraju lijek prije nego što uopće dođe do njegova vezanja za metu u staničnoj stijenci.

Glavni mehanizam rezistencije na aminoglikozide je fosforilacija, adenilacija i acilacija alkoholnih i amino skupina u strukturi lijekova djelovanjem aminoglikozid-modificirajućeg enzima (*engl. aminoglycoside-modifying enzymes – AME*), čime se oni inaktiviraju budući da su im te skupine važne za djelovanje i vezanje na metu (Qin i sur, 2012). Ovaj je mehanizam važan za gram-negativne ESKAPE patogene i *S. aureus*.

4.2.1.2. Promjena afiniteta veznog mjesta na ciljnom proteinu (promjena u strukturi veznog mjesta)

Na nekoliko načina može doći do modifikacije veznog mjesta za lijek, što će kao posljedicu imati manji afinitet vezanja lijeka za vezno mjesto ili će vezanje lijeka biti onemogućeno. Ovakav je mehanizam rezistencije najznačajniji za β -laktamske antibiotike, fluorokinolone, makrolide, linkozamide i streptogramine.

β -laktamski antibiotici djeluju na način da vezanjem za PBP u staničnoj stijenci bakterije onemogućuju poprečno povezivanje stijenke, zbog čega ona postaje krhka, ne može spriječiti ulazak vode i puca. Kod MRSA sojeva eksprimirani su geni *mecA* koji kodiraju za modificirani tip PBP – PBP2a, koji ima manji afinitet za antibiotike β -laktamske strukture (Lakhundi i Zhang, 2018). Analogno se događa i kod *E. faecium* koji ima eksprimiran PBP5 (Arias i Murray, 2012) i *A. baumannii* kod kojeg ovaj mehanizam povezujemo s rezistencijom na karbapeneme (Poirel i Nordmann, 2006).

Fluorokinoloni blokiraju bakterijsku sintezu DNA inhibirajući bakterijsku topoisomerasu II (DNA girazu) i topoisomerasu IV. Rezistencija nastaje zbog jedne ili više točkastih mutacija ciljnog enzima u regiji vezanja fluorokinolona (Beauduy i Winston, 2020). Do mutacije dolazi na genima *gyrA* i/ili *parC* (Hooper, 2001). Druga mogućnost je plazmidski posredovana rezistencija (*engl. plasmid-mediated quinolone resistance – PMQR*) posredovana Qnr proteinima, karakteristična za *K. pneumoniae* i *Enterobacter* spp. Qnr proteini (QnrA, QnrB, QnrS) vežu se direktno za DNA girazu te na taj način modificiraju vezno mjesto (Ruiz, 2019; Robicsek i sur., 2006).

Do rezistencije na makrolide, linkozamide i streptogramine dolazi zbog promjene ciljnog veznog mjesta na ribosomu. Značajno je kod *S. aureus* i *Enterococcus* spp., a posredovano je *erm* kodiranim rRNA metiltransferazom. Enzim djeluje tako da dimetilira specifični ostatak 23S rRNA na 50S podjedinici bakterijskog ribosoma (Weisblum, 1995).

4.2.1.3. Inhibicija nakupljanja lijeka u bakterijskoj stanici

Smanjeno nakupljanje lijeka u bakterijskoj stanici može biti posljedica nekoliko mehanizama: promjene u sintezi porina ili njihovoj strukturi, povećanog stvaranja efluksnih pumpi ili pak promjena u permeabilnosti polisaharidnih komponenti u vanjskoj (lipopolisaharidnoj) membrani gram-negativnih bakterija.

Porini su kanali prisutni na lipopolisaharidnoj membrani gram-negativnih bakterija, čija je uloga da reguliraju prolaz molekula u bakterijsku stanicu. Kroz porine lako prolaze male, hidrofilne molekule poput β -laktamskih antibiotika i fluorokinolona. Kod *P. aeruginosa* dolazi do modifikacije OprD porina što kao posljedicu ima rezistenciju na karbapeneme (Pages i sur, 2008), u *A. baumannii* modificira se CarO porin što rezultira rezistencijom na imipenem (Li i sur, 2015), dok je rezistencija na karbapeneme u *K. pneumoniae* i *Enterobacter* spp. posljedica zamjene Omp35 porina s Omp36 (Pages i sur, 2008).

Pumpe za izbacivanje lijekova iz stanice (efluksne pumpe) čini 6 različitih porodica: RND (*engl. resistance-nodulation-division*), MFS (*engl. major facilitator superfamily*), MATE (*engl. multidrug and toxic compound extrusion*), SMR (*engl. small multidrug resistance*), ABC (*engl. ATP-binding cassette*) i PACE (*engl. proteobacterial antimicrobial compound efflux*) (Li i sur., 2015). Ovakav mehanizam rezistencije važan je za tetracikline i makrolide.

4.2.1.4. Dodatni mehanizmi

Valja napomenuti da dodatne probleme uzrokuje sposobnost nekih bakterija da stvaraju biofilme. Biofilm se definira kao nakupina mikroorganizama i njihovih izvanstaničnih produkata (matriks) koji zajedno tvore funkcionalnu zajednicu koja se lako priljubljuje za neku površinu (Donlan, 2002). Klinički je to značajno u pacijenata sa cističnom fibrozom kod kojih dolazi do kronične infekcije dišnih puteva bakterijom *P. aeruginosa* te kod infekcija uzrokovanih *S. aureus* i *A. baumannii* gdje se biofilm „hvata“ na medicinskim implantatima (npr. kateteri, umjetni kukovi, stentovi...) (Percival i sur., 2015). Uz infekcije uzrokovane biofilmom vežemo pojam antibiotske tolerancije koja bakterijama u biofilmu omogućuje da prežive visoke doze baktericidnog antibiotika unatoč tome što bi po testovima antibiotske osjetljivosti trebali biti osjetljivi na dani antibiotik (Brauner i sur., 2016). Nastankom biofilma provođenje antimikrobne terapije dodatno se otežava jer biofilm pokazuje veliki potencijal za antibiotsku rezistenciju. Važnu ulogu u formiranju biofilma ima quorum sensing, o čemu će nešto više riječi biti kasnije.

4.3. Nozokomijalne infekcije

Prema definiciji Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (*engl. Centers for Disease Control and Prevention – CDC*), nozokomijalnom infekcijom (*engl. Hospital Acquired Infection ili Healthcare Associated Infection*) smatramo svaku infekciju do koje je došlo unutar 48 sati od hospitalizacije, a koja nije bila prisutna prilikom zaprimanja pacijenta u bolnicu. U skupinu infekcija stečenih u bolnici smatramo i svaku infekciju koja se detektira unutar nekoliko dana nakon prestanka hospitalizacije ili unutar mjesec dana kod pacijenata koji su bili na operativnom zahvatu (www.cdc.gov).

Najčešće su razvoju nozokomijalnih infekcija skloniji pacijenti koji su lošeg općeg zdravstvenog stanja, a razvoju infekcija doprinosi i korištenje invazivnih uređaja kao što su (centralni) venski i urinarni kateteri ili postupaka poput endotrahealne intubacije u kombinaciji s mehaničkom ventilacijom koje su nužne u održavanju respiracije kod određenih pacijenata (Leone i sur., 2018; www.cdc.gov).

Osim već spomenutog, veliku ulogu u nastanku nozokomijalnih infekcija ima i poštivanje mjera opreza vezanih uz prijenos infekcije – među pacijentima, među pacijentima i osobljem, u kontaktu s predmetima ili površinama, ili aerosolom.

Kako bismo dodatno naglasili opasnost kojom prijete ESKAPE patogeni (naročito) u bolničkoj sredini, u nastavku je prikazano vrijeme preživljavanja odabranih patogena na površinama.

Tablica 1. Vrijeme preživljavanja odabranih patogena na površinama (preuzeto i prilagođeno prema Dancer, 2014)

| Mikroorganizam | Vrijeme preživljavanja |
|--------------------------------|-------------------------------|
| VRE | do 4 mjeseca |
| MRSA | do 7 mjeseci |
| Klebsiella pneumoniae | do 30 mjeseci |
| Acinetobacter baumannii | do 5 mjeseci |

4.4. Epidemiološki podaci

4.4.1. Praćenje osjetljivosti i rezistencije bakterija na antibiotike u Hrvatskoj

S obzirom na težinu posljedica koje nose infekcije uzrokovane ESKAPE patogenima (i ostalim višestrukorezistentnim bakterijama), prema preporukama Svjetske zdravstvene organizacije praćenje rezistencije/osjetljivosti trebalo bi biti obaveza svih država.

U Hrvatskoj je praćenje rezistencije na antibiotike počelo 1996. u okviru programa Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike pri Akademiji medicinskih znanosti Hrvatske (AMZH), a od 1998. RH je uključena u europski projekt European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) koji je 2010. prerastao u kontinuirani program EARS-Net Europskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti (*engl. European Center for Disease Prevention and Control – ECDC*). U nacionalno praćenje rezistencije na antibiotike uključeno je 39 centara (podaci za 2021. godinu) i smatra se da je podacima ove studije pokriveno gotovo 100% hrvatske populacije. Laboratorijsku podršku praćenju rezistencije pruža Referentni centar za praćenje rezistencije na antibiotike (RC ATB) pri Klinici za infektivne bolesti Dr. Fran Mihaljević (Tambić Andrašević i sur., 2021).

Osjetljivost na antibiotike testira se metodom disk-difuzije i određivanjem minimalnih inhibitornih koncentracija (MIK) korištenjem gradijent testova, uz iznimku kolistina gdje se za određivanje MIK koristi mikrodilucija u bujonu. Pri ispitivanju osjetljivosti koriste se standardi European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Svrha EUCAST-a je harmonizacija metodologije testiranja osjetljivosti na antibiotike među europskim zemljama, no EUCAST standardi su prihvaćeni i šire (Tambić Andrašević i sur., 2021).

Od 2019. usvojena je nova interpretacija S, I i R kategorija:

- S – osjetljiv uz standardno doziranje
- I – osjetljiv uz povećanu izloženost
- R – rezistentan

Podaci o rezistenciji u RH dobivaju na važnosti kad je 2006. osnovano interdisciplinarno tijelo pri Ministarstvu zdravlja – Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike (ISKRA) koje ima ulogu u koordinaciji svih aktivnosti vezanih za antibiotsku rezistenciju (Tambić Andrašević i sur., 2021).

U sklopu EARSS projekta posebno se obrađuje rezistencija invazivnih izolata (iz krvi i likvora jer se tako postiže da je interpretacija u svim laboratorijima jednaka i njihovo kliničko značenje neupitno) bakterijskih vrsta *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *A. baumannii*. Nedostatak ove metode stoji u činjenici da se prvi izolati s novim mehanizmima rezistencije ne moraju javiti u hemokulturi ili likvoru (Tambić Andrašević i sur., 2021).

Napomena: svi podaci navedeni i korišteni u ovom poglavlju objavljeni su u monografiji Odbora za praćenje rezistencije bakterija na antibiotike u 2021. godini u RH te u Nadzornom izvješću (Surveillance report) ECDC-a o AMR na području Europe (EU/EEA) u 2021.

4.4.1.1. Rezistencija bakterijskih izolata u 2021. godini

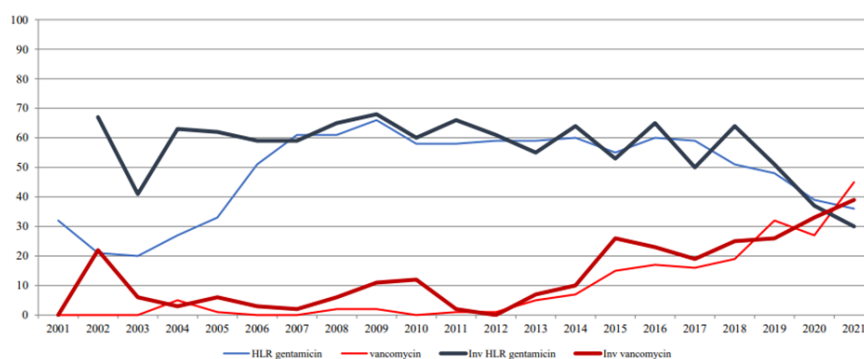
4.4.1.1.1. Enterococcus faecium

Bakterije iz roda *Enterococcus* imaju intrinzičnu slabiju osjetljivost na peniciline i aminoglikozide (Kalenić i sur., 2019).

Kako je vidljivo iz slike 3., gotovo svi izolati *E. faecium* pokazuju rezistenciju na ampicilin (92% rezistentnih sojeva), a dosta je visoka rezistencija i na norfloksacin koji je uveden kao indikator osjetljivosti za ciprofloksacin i levofloksacin (87%). Udio izolata s visokom rezistencijom na aminoglikozide (gentamicin) iznosi 36%.

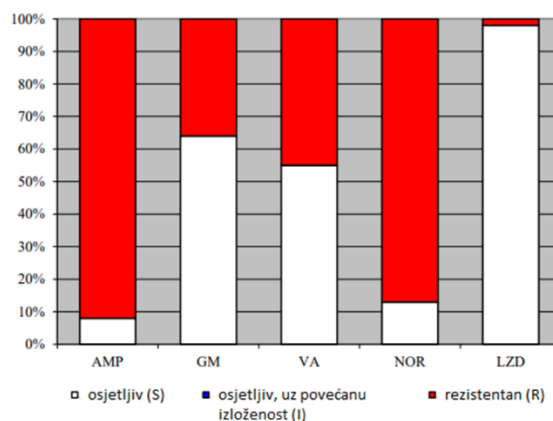
Porast rezistencije na vankomicin krenuo je 2012. godine i gotovo je bez prestanka u kontinuitetu (slika 2.). Udio izolata rezistentnih na vankomicin iznosio je 45%.

Osjetljivost na linezolid je zadovoljavajuća, sa udjelom rezistentnih izolata od 2%.



HLR = high level resistance, Inv = invazivni izolat

Slika 2. Rezistencija E. faecium na antibiotike u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)



AMP = ampicilin, GM = gentamicin, VA = vankomicin, NOR = norfloksacin, LZD = linezolid

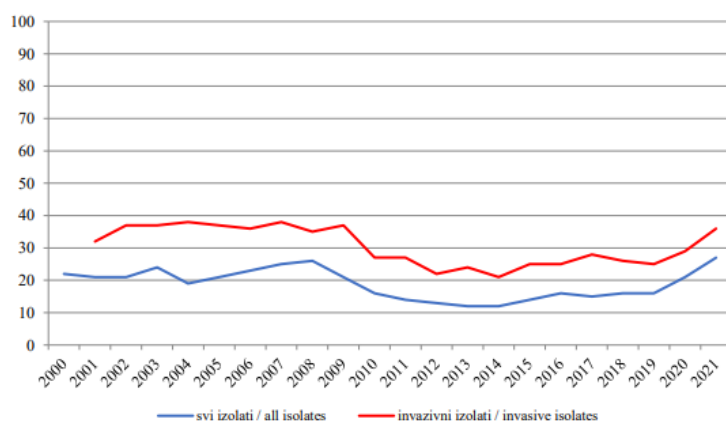
Slika 3. Osjetljivost E. faecium na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

4.4.1.1.2. Meticilin-rezistentni Staphylococcus aureus (MRSA)

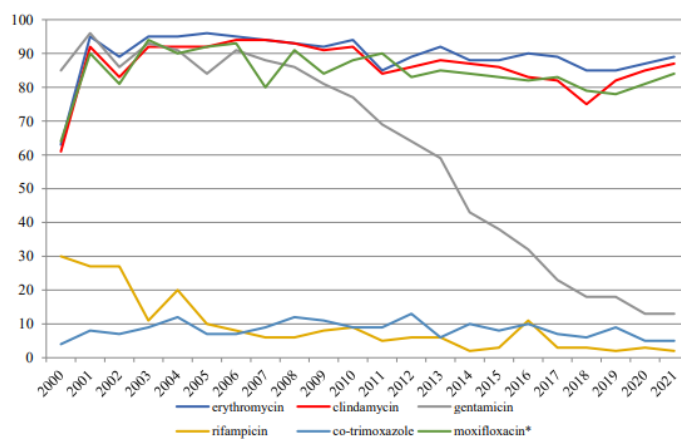
Od 2015. godine stopa rezistentnih MRSA sojeva u stalnom je porastu (slika 4.), a u odnosu na 2020. godinu porastao je i ukupan broj MRSA izolata.

Na slici 5. možemo uočiti da rezistencija na gentamicin ima trend pada, dok rezistencija na moksifloksacin, eritromicin i klindamicin ima trend porasta u zadnjih nekoliko godina.

Iz slike 6. možemo vidjeti da su visoke stope rezistentnih izolata na antibiotike: cefoksitin/meticilin (100%), eritromicin (89%), klindamicin (konstitutivno 57%, inducibilno 29%), moksifloksacin (84%), a rezistencija na vankomicin i linezolid nije uočena.

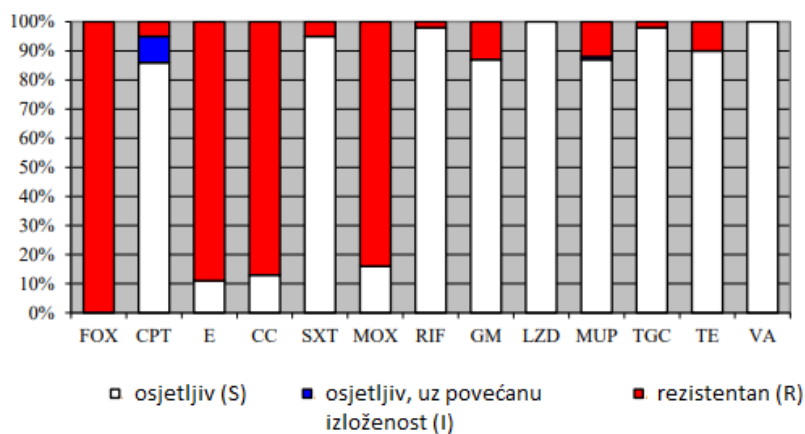


Slika 4. Stope rezistencije soja MRSA u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)



*do 2019. testiran ciprofloksacin

Slika 5. Rezistencija MRSA na antibiotike u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur, 2021)



FOX = cefoksitin/meticilin, CPT = ceftarolin, E = eritromicin, CC = klindamicin, SXT = sulfametoksazol+trimetoprim, MOX = moksifloksacin, RIF = rifampicin, GM = gentamicin, LZD = linezolid, MUP = mupirocin, TGC = tigeciklin, TE = tetraciklin, VA = vankomicin

Slika 6. Osjetljivost MRSA na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

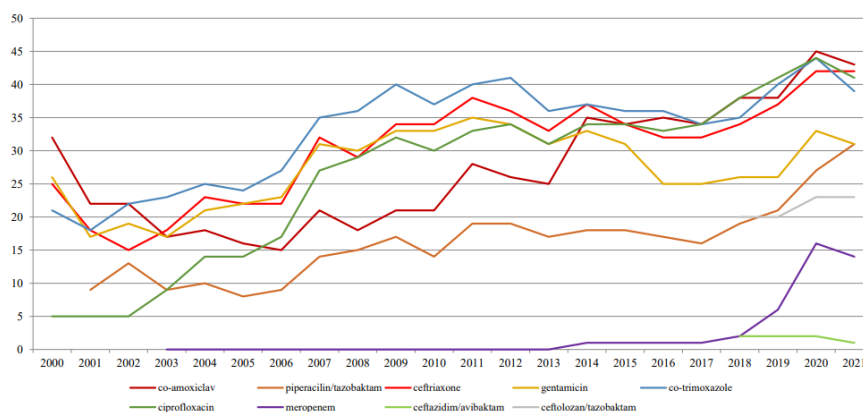
4.4.1.1.3. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae je prirodno rezistentna na ampicilin, međutim uslijed dugotrajnog izlaganja antibioticima primjećuje se rezistencija i na ostale β -laktamske antibiotike. Isto je vidljivo iz slike 8. – postotak izolata rezistentnih na ampicilin je 100%, a visok je postotak rezistencije i na ostale lijekove iz skupine: amoksicilin + klavulanska kiselina (43%), piperacilin+tazobaktam (31%), cefaleksin (45%), cefuroksim oral (44%), cefuroksim parenteral (44% R i 56% I), ceftazidim (41%), ceftriakson (42%), cefepim (41%), cefiksim (43%).

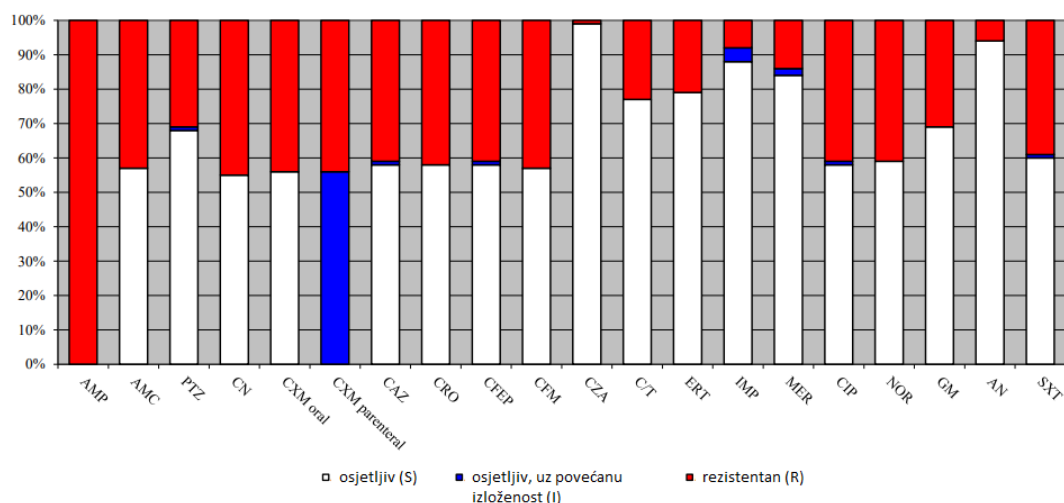
Iz slike 7. vidimo da je rezistencija *K. pneumoniae* na kombinaciju ceftolozana i avibaktama vrlo niska i tog se trenda drži već nekoliko godina, što je veoma bitno jer navedena kombinacija ima vrlo dobru učinkovitost na sojeve koji proizvode ESBL, AmpC, KPC i OXA-48 β -laktamaze. Ono što je problematično je porast ukupnog broja rezistentnih izolata.

Osim već navedenih β -laktamskih antibiotika s visokim stopama rezistencije, iz slike 8. vidljivo je da je visoki postotak rezistentnih izolata i na antibiotike: ciprofloksacin i norfloksacin (41%), gentamicin (31%), sulfametoksazol+trimetoprim (39%).

Rezistencija na cefalosporine 3. i 4. generacije je u blagom porastu u odnosu na prethodne godine (iznad 40% za cefepim, ceftazidim i cefiksim, u odnosu na stope ispod 40% u 2019. godini). U porastu je i rezistencija na kombinacije amoksicilina i klavulanske kiseline te ceftolozana i tazobaktama.



Slika 7. Rezistencija *K. pneumoniae* na antibiotike u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)



AMP = ampicilin, AMC = ampicilin + klavulanska kiselina, PTZ = piperacilin + tazobaktam, CN = cefaleksin, CXM = cefuroksim, CAZ = ceftazidim, CRO = ceftriakson, CFEP = cefepim, CFM = cefiksim, CZA = ceftazidim + avibaktam, C/T = ceftolozan + tazobaktam, ERT = ertapenem, IMP = imipenem, MER = meropenem, CIP = ciprofloksacin, NOR = norfloksacin, GM = gentamicin, AN = amikacin, SXT = sulfametoksazol + trimetoprim

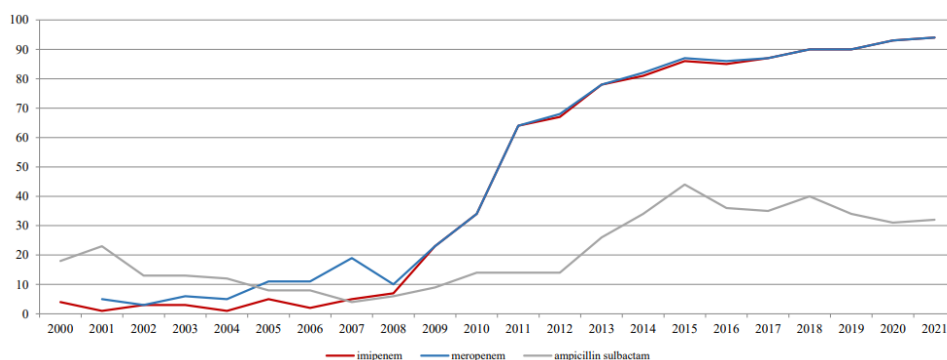
Slika 8. Osjetljivost *K. pneumoniae* na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

4.4.1.1.4. *Acinetobacter baumannii*

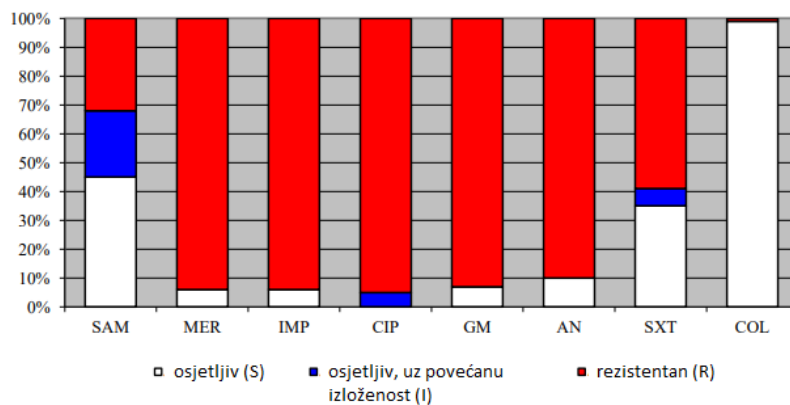
Iz slike 9. vidljivo je da je rezistencija *A. baumannii* na karbapeneme u stalnom porastu od 2008. godine. Stope rezistencije na imipenem i meropenem su visoke i iznose 94%.

Osjetljivost na kolistin testira se samo kod izolata koji su rezistentni na karbapeneme, međutim takvi izolati čine većinu pa se stope rezistencije na kolistin mogu uspoređivati s ostalim antibioticima. Rezistencija na kolistin u 2021. godini i dalje je niska (1%) (slika 10.).

Osim navedenog, izolati su visoko rezistentni i na antibiotike ciprofloksacin (96% R izolata, 4% I), gentamicin (93%), amikacin (90%), sulfametoksazol + trimetoprim (59% R izolata, 6% I), a zabilježena je i nešto veća rezistencija na ampicilin + sulbaktam (32% R izolata, 23% I) (slika 10.).



Slika 9. Rezistencija *A. baumannii* na antibiotike u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)



SAM = ampicilin + sulbaktam, MER = meropenem, IMP = imipenem, CIP = ciprofloksacin, GM = gentamicin, AN = amikacin, SXT = sulfametoksazol + trimetoprim, COL = kolistin

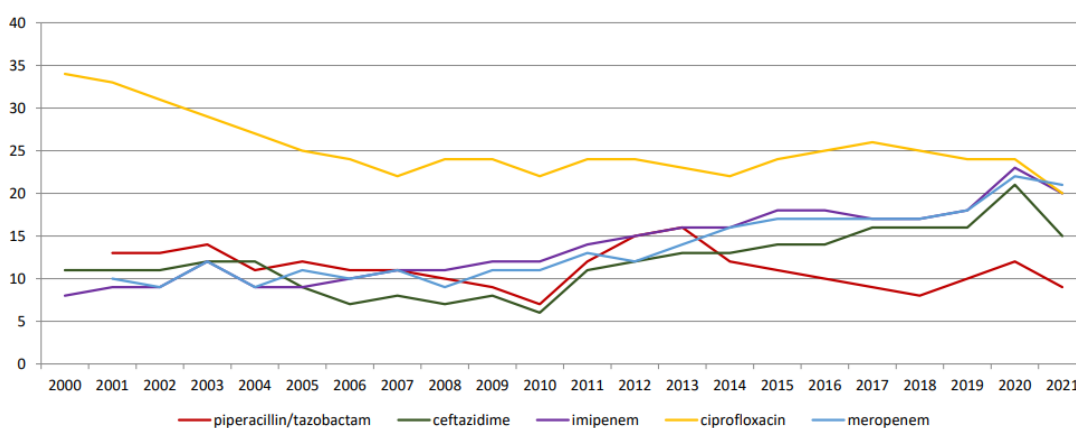
Slika 10. Osjetljivost *A. baumannii* na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

4.4.1.1.5. Pseudomonas aeruginosa

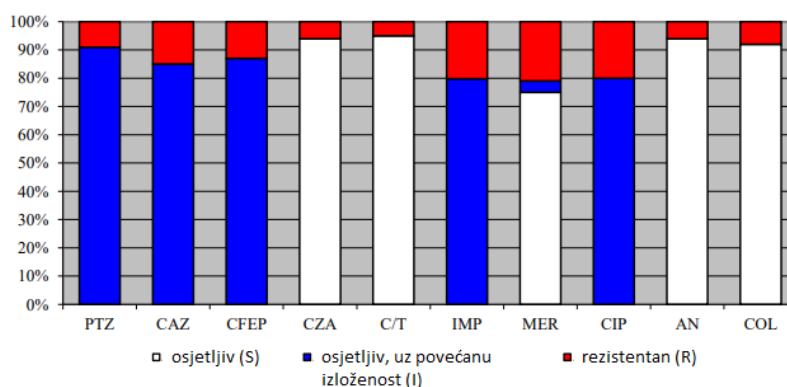
Za mnoge antibiotike ne postoji kategorija S u testiranju rezistencije jer se pokazalo da se liječenje infekcija uzrokovanih sa *P. aeruginosa* koriste više doze antibiotika (piperacilin + tazobaktam, ceftazidim, cefepim, imipenem, ciprofloksacin) (slika 12.).

Na kolistin se testiraju samo višestrukorezistentni izolati. Takvih je manje u odnosu na *A. baumannii* pa se podaci o rezistenciji na kolistin ne mogu uspoređivati s podacima za druge antibiotike.

Na slici 11. vidljiv je uzlazni trend rezistentnih izolata na gotovo sve antibiotike. Antibiotici amikacin i kolistin te kombinacije ceftazidim + avibaktam, ceftolozan + tazobaktam, nemaju visoke stope rezistencije – preko 90% osjetljivih izolata (slika 12.).



Slika 11. Rezistencija *P. aeruginosa* na antibiotike u RH 2000. – 2021. (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)



PTZ = piperacilin + tazobaktam, CAZ = ceftazidim, CFEP = cefepim, CZA = ceftazidim + avibaktam, C/T = ceftolozan + tazobaktam, IMP = imipenem, MER = meropenem, CIP = ciprofloksacin, AN = amikacin, COL = kolistin

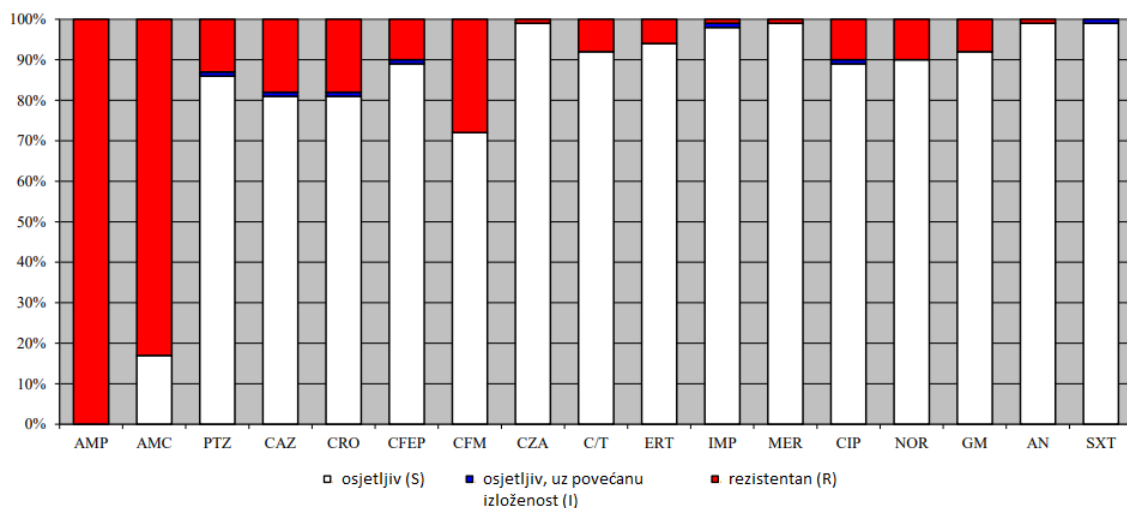
Slika 12. Osjetljivost *P. aeruginosa* na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

4.4.1.1.6. Enterobacter spp., Klebsiella aerogenes, Seratia spp., Citrobacter spp. (zbirni prikaz izolata)

Enterobakterije prirodno posjeduju inducibilne cefalosporinaze, što znači da u tijeku terapije cefalosporinima može doći do nastanka mutanata koji će producirati velike količine cefalosporinaze i razgraditi antibiotik.

Na slici 13. vidljiv je visoki udio izolata koji su rezistentni na ampicilin (100%) i kombinaciju amoksicilina s klavulanskom kiselinom (83%).

Antibiotici na koje je osjetljivo više od 80% izolata su piperacilin + tazobaktam (13% R izolata, 1% I), ceftazidim i ceftriakson (18% R izolata, 1% I), cefepim (10% R izolata, 1% I), ceftazidim + avibaktam (1%), ertapenem (6% R izolata), imipenem (1% R izolata, 1% I), meropenem (1% R izolata), ciprofloksacin (10% R izolata, 1% I), norfloksacin (10% R izolata), gentamicin (8% R izolata), amikacin (1% R izolata), sulfametoksazol + trimetoprim (11% R izolata) i sve su stope slične prošlogodišnjima (slika 13.).



AMP = ampicilin, AMC = ampicilin + klavulanska kiselina, PTZ = piperacilin + tazobaktam, CAZ = ceftazidim, CRO = ceftriakson, CFEP = cefepim, CFM = cefiksime, CZA = ceftazidim + avibaktam, C/T = ceftolozan + tazobaktam, ERT = ertapenem, IMP = imipenem, MER = meropenem, CIP = ciprofloksacin, NOR = norfloksacin, GM = gentamicin, AN = amikacin, SXT = sulfametoksazol + trimetoprim

Slika 13. Osjetljivost Enterobacter spp., K. aerogenes, Seratia spp., Citrobacter spp. na antibiotike u razdoblju 1.10. – 31.12.2021. u RH (preuzeto iz Tambić Andrašević i sur., 2021)

4.4.1.2. Rezistencija u invazivnih izolata u 2021. godini

Za prioritete u praćenju odabrano je osam bakterijskih vrsta za koje se pokazalo da su vrlo virulentne te da imaju trend porasta rezistencije: *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* i *Acinetobacter* spp. Za potrebe ovog rada, osvrnut ćemo se samo na one vrste koje svrstavamo u skupinu ESKAPE patogena.

Prema nadzornom izvještaju ECDC-a o AMR na području zemalja EU/EEA za 2021. u usporedbi s 2017. godinom zabilježen je značajan porast broja prijavljenih invazivnih izolata za sve vrste, kao što je prikazano u tablici 2. S obzirom da svi navedeni izolati predstavljaju tipične bolničke patogene, dodatno zabrinjava činjenica da je povećan i njihov udio u JIL (osim *S. aureus*).

Tablica 2. Usporedba broja izolata pojedinih bakterijskih vrsta te njihov postotak u jedinicama intenzivnog liječenja za 2017. i 2021. godinu (preuzeto i prilagođeno prema Nadzornom izvješću ECDC-a o AMR na području zemalja EU/EEA, 2023)

| Bakterijska vrsta | 2017 | | 2021 | |
|----------------------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| | Broj izolata | Izolati iz JIL (%) | Broj izolata | Izolati iz JIL (%) |
| <i>E. faecium</i> | 89 | 12 | 113 | 50 |
| <i>S. aureus</i> | 520 | 16 | 600 | 13 |
| <i>K. pneumoniae</i> | 313 | 18 | 361 | 32 |
| <i>Acinetobacter</i> spp. | 208 | 42 | 408 | 75 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 238 | 17 | 214 | 45 |

U usporedbi s 2017. godinom zabilježen je porast ukupnog broja prijavljenih invazivnih izolata u RH: *E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, kako je prikazano u tablici 3. Vidljiv je trend porasta rezistencije *E. faecium* na glikopeptide (vankomicin) (tablica 3.).

Povećanje broja prijavljenih izolata *S. aureus* prati i veći broj prijavljenih MRSA izolata i to sa visokom stopom od skoro 35% za invazivne MRSA sojeve (tablica 3.).

Trend porasta stopa rezistencije invazivnih izolata *K. pneumoniae* uočen je u svim klasama antibiotika, osim aminoglikozida gdje su stope zadnjih nekoliko godina stabilizirane na ispod 40% (tablica 3.).

Jako je velik porast prijavljenih izolata *Acinetobacter* spp., kao i visoki udio rezistentnog fenotipa na sve skupine testiranih antibakterijskih lijekova, od čega treba istaknuti

rezistenciju na karbapeneme i fluorokinolone koja prelazi 99%. Zabrinjavajuća je činjenica da smo među zemljama EU/EEA država s najvećom stopom rezistencije na sve klase testiranih antibakterijskih lijekova (tablica 3.).

Kod *P. aeruginosa* nema većih odstupanja od dosadašnjih stopa rezistencije (tablica 3.).

Tablica 3. Ukupan broj testiranih invazivnih izolata s postotkom rezistentnog fenotipa za 2017. i 2021. godinu u Hrvatskoj, za pojedinu bakterijsku vrstu i prema odabranim antibakterijskim lijekovima ili skupinama antibakterijskih lijekova; raspon postotaka rezistentnog fenotipa u zemljama EU/EEA; trend u razdoblju 2017.-2021. (preuzeto i prilagođeno prema Nadzornom izvješću ECDC-a o AMR na području zemalja EU/EEA, 2023)

| Bakterijska vrsta | Antibakterijski lijek/skupina | 2017 | | 2021 | | 2021 raspon EU/EEA | Trend 2017-2021 |
|---------------------------|--|------|------|------|------|--------------------|-----------------|
| | | n | % | n | % | | |
| E. faecium | vankomicin-rezistentni (VREfm) | 89 | 19,1 | 113 | 39,8 | 17,2 (0,0-66,4) | ↑ |
| S. aureus | meticilin-rezistentni (MRSA) | 520 | 28,5 | 600 | 34,8 | 15,8 (0,9-42,9) | ↑ |
| K. pneumoniae | Rezistencija na 3. gen. cefalosporina (cefotaksim/ceftriakson/ceftazidim) | 309 | 41,7 | 361 | 62,0 | 34,3 (3,4-81,4) | ↑ |
| | Rezistencija na karbapeneme (imipenem/meropenem) | 302 | 0,0 | 353 | 32,9 | 11,7 (0,0-73,7) | ↑ |
| | Rezistencija na fluorokinolone (ciprofloksacin/levofloksacin/ofloksacin) | 309 | 40,8 | 360 | 63,9 | 33,6 (0,0-80,0) | ↑ |
| | Rezistencija na aminoglikozide (gentamicin/tobramicin) | 311 | 30,9 | 356 | 46,6 | 23,7 (0,0-69,1) | ↑ |
| | Kombinirana rezistencija na cefalosporine 3. gen., fluorokinolone i aminoglikozide | 305 | 23,0 | 355 | 43,4 | 21,2 (0,0-67,4) | ↑ |
| Acinetobacter spp. | Rezistencija na karbapeneme (imipenem/meropenem) | 208 | 96,2 | 407 | 99,5 | 39,9 (0,0-99,5) | ↑ |
| | Rezistencija na fluorokinolone (ciprofloksacin/levofloksacin) | 204 | 98,0 | 405 | 99,8 | 43,0 (1,5-99,8) | ↑ |

| | | | | | | | |
|----------------------|--|-----|------|-----|------|-----------------|----|
| | Rezistencija na aminoglikozide (gentamicin/tobramicin) | 206 | 84,0 | 405 | 98,8 | 39,6 (2,1-98,8) | ↑ |
| | Kombinirana rezistencija na karbapeneme, fluorokinolone i aminoglikozide | 203 | 83,7 | 402 | 98,5 | 36,8 (0,0-98,5) | ↑ |
| P. aeruginosa | Rezistencija na piperacilin+tazobaktam | 234 | 16,2 | 209 | 10,5 | 18,7 (0,0-47,2) | - |
| | Rezistencija na ceftazidim | 231 | 19,5 | 212 | 17,5 | 15,8 (2,3-46,0) | - |
| | Rezistencija na karbapeneme (imipenem/meropenem) | 238 | 30,7 | 214 | 31,3 | 18,1 (3,5-45,9) | - |
| | Rezistencija na fluorokinolone (ciprofloksacin/levofloksacin) | 237 | 32,9 | 213 | 19,7 | 18,7 (3,3-48,0) | ↓ |
| | Rezistencija na aminoglikozide (gentamicin/tobramicin) | 237 | 26,6 | ND | ND | 8,9 (0,0-41,7) | NA |
| | Kombinirana rezistencija na 3 ili više grupe lijekova | 225 | 21,8 | ND | ND | 12,6 (0,0-42,1) | NA |

↑ = statistički značajno povećanje trenda, ↓ = statistički značajno smanjenje trenda, - = bez statistički značajnog povećanja/smanjenja trenda, ND = nema dostupnih podataka, NA = nije primjenjivo

4.5. Klasifikacija antibakterijskih lijekova

Lijekove koji se koriste u liječenju infekcija uzrokovanih bakterijama možemo podijeliti na nekoliko načina:

- a) Podjela prema podrijetlu lijekova: sintetski antibakterijski lijekovi (sintetski spojevi nepovezani s prirodnim produktima – npr. fluorokinoloni, nitro spojevi, sulfonamidi) i antibiotici (spojevi izolirani iz prirodnih izvora ili njihovi sintetski/polusintetski derivati).

Često se izraz „antibiotik“ izjednačava s pojmom „antibakterijski lijek“, međutim to nije sasvim točno, s obzirom da antibiotik može biti i citostatik ili antimikotik, odnosno bilo kakav produkt bakterije, gljivice ili plijesni koji im pomaže u obrani od drugih organizama.

- b) Podjela na bakteriostatike i baktericide: bakteriostatiki djeluju tako da sprječavaju rast i razmnožavanje bakterija što rezultira oslabljivanjem bakterija i omogućava našem

imunom sustavu da se s njima bori, dok baktericidi ubijaju bakterije i važni su kod osoba s oslabljenim imunim sustavom.

U tablici 4. sumarno je prikazana klasifikacija antibakterijskih lijekova i neke njihove najvažnije značajke.

Tablica 4. Klasifikacija antibakterijskih lijekova i neke najvažnije značajke (prilagođeno prema Beauduy i Winston, 2020; Kalenić i sur., 2019)

| Sintetski antibakterijski lijekovi | | | | |
|--|--|---|--|--|
| Skupina | Predstavnici | Mehanizam | Antimikrobni spektar | |
| fluorokinoloni | ciprofloksacin levofloksacin ofloksacin moksifloksacin gemifloksacin norfloksacin | inhibicija replikacije DNA vezanjem na topoizomerazu II i IV | G+, G- anaerobi (moksifloksacin) mikobakterije, klamidije, rikecije, koksije, bartonele, brucele | |
| nitro spojevi | metronidazol | oštećenje makromolekula redukcijom nitro skupine | anaerobi i mikroaerofili | |
| | nitrofurantoin | | E. coli i G+ u mokr. sustavu | |
| sulfonamidi | sulfametoksazol + trimetoprim (kotrimoksazol) | inhibicija dva enzima koji kataliziraju reakcije u sintezi THF – spriječena sinteza DNA | G+ (osim enterokoka), G- klamidije nokardije | |
| Antibiotici koji inhibiraju sintezu stanične stijenke | | | | |
| Skupina | Predstavnici | Mehanizam | Antimikrobni spektar | |
| β-laktamski antibiotici | penicilini | ireverzibilna inhibicija transpeptidaze (poprečno povezivanju unutar peptidoglikana) | streptokoki, meningokoki, neki enterokoki, pneumokoki osjetljivi na penicilin, stafilokoki i G- anaerobi koji ne stvaraju β-laktamazu | |
| | | | polusintetski penicilini otporni na β- laktamazu: oksacilin, kloksacilin, dikloksacilin, flukloksacilin | stafilokoki (osim MRSA), streptokoki, pneumokoki, gonokoki, Bacteroides spp. |
| | penicilini širokog spektra | | aminopenicilini: ampicilin, amoksisicilin | anaerobi, enterokoki, β-laktamaza- negativni sojevi G- koka i bacila (E. coli, salmonele, šigele, Listeria, Clostridium spp.) |
| | | | karboksipenicilini: tikarcilin, karbenicilin | G- (P. aeruginosa, Enterobacteriaceae) |
| | | | ureidopenicilini: piperacilin (isključivo u kombinaciji s tazobaktamom) | P. aeruginosa, E. coli, P. mirabilis, salmonele, šigele, streptokoki, pneumokoki, enterokoki (osim E. faecium) |
| | kombinacije penicilina s | | amoksisicilin + klavulanska kiselina | proširenje spektra na sojeve koji stvaraju β-laktamazu |
| tikarcilin + klavulanska kiselina | | | | |

| | | | | |
|---------------------------|--|--|--|---|
| | inhibitorom β -laktamaze | ampicilin + sulbaktam | | |
| | | piperacilin + tazobaktam | | |
| | cefalosporini | 1. generacija: cefaleksim, cefazolin | ireverzibilna inhibicija transpeptidaze (poprečno povezivanju unutar peptidoglikana) | G+ koki (streptokoki i stafilokoki) |
| | | 2. generacija: cefuroksim | | G+ koki (streptokoki i stafilokoki), G- (E. coli, Klebsiella spp., P. mirabilis, salmonelle, šigele, H. influenzae) |
| | | 3. generacija: ceftazidim, cefotaksim, cefpodoxim proksetil, ceftriakson, cefoperazon, ceftibuten, cefiksiksim | | dotatno proširen spekatar djelovanja na G- |
| | | 4. generacija: cefepim | | P. aeruginosa, Enterobacteriaceae, MRSA, S. pneumoniae, Haemophilus i Neisseria sp. |
| | | 5. generacija: ceftobiprol medokaril, ceftarolin fosamil | | S. aureus, MRSA, enterokoki, enterobakterije |
| | kombinacije s inhibitorom β -laktamaze | ceftazidim + avibaktam | | P. aeruginosa i Enterobacteriaceae koje proizvode AmpC i ESBL, potencijalno i karbapenemaze |
| | | ceftolozan + tazobaktam | | |
| | karbapenemi | imipenem | ireverzibilna inhibicija transpeptidaze (poprečno povezivanju unutar peptidoglikana) | aerobni i anaerobni G+ i G- (najširi spekatar od svih do sad poznatih antibiotika) |
| ertapenem | | | | |
| meropenem | | | | |
| doripenem, tebipenem | | sojevi pneumokoka rezistentni na peniciline, otporni na hidrolizu β -laktamazama (uključujući i one širokog spektra) | | |
| monobaktami | aztreonam | | G- aerobi (P. aeruginosa, E. coli, Klebsiella spp., Neisseria spp.) | |
| glikopeptidni antibiotici | vankomicin | sterički sprječava pristup transglikozidazi i transpeptidazi | G+ (MRSA, C. difficile) | |
| | teikoplanin | sterički sprječava pristup transglikozidazi i transpeptidazi | G+ (MRSA, C. difficile) | |
| | telavancin | dotatno remeti potencijal st. membrane i povećava propusnost | proširenje spektra na sojeve sa smanjenom osjetljivošću na vankomicin | |
| | dalbavancin, oritavancin | sterički sprječava pristup transglikozidazi i transpeptidazi | proširenje spektra na sojeve sa smanjenom osjetljivošću na vankomicin | |
| ostali | cikloserin | inhibicija L-alanin racemaze i D-Ala-D-Ala ligaze | G+, G- (značajan za liječenje tuberkuloze) | |
| | fosfomicin | inhibicija enol-piruvat-transferazu (sinteza peptidoglikana) | G+, G- (UTI) | |
| | bacitracin | vezanje na lipidni nosač koji prenosi NAM-pentapeptid kroz st. membranu | G+ | |

| Antibiotici koji djeluju na staničnu membranu | | | |
|---|---|--|---|
| Predstavnici | | Mehanizam | Antimikrobni spektar |
| gramicidin D, tirocidin | | narušavaju integritet st. membrane | G+ (topički) |
| daptomicin | | umetanje u st. membranu i remećenje potencijala (depolarizacija, izlazak iona kalija) | proširenje spektra na sojeve sa smanjenom osjetljivošću na vankomicin (MRSA, VRE) |
| polimiksini | polimiksin B polimiksin E (kolistin) | vežu se na st. membranu i uništavaju njenu funkciju transporta i propusnosti | G- polimiksin B isključivo topički u kombinaciji s bacitracinom kolistin – MDR P. aeruginosa, A. baumannii, K. pneumoniae |
| Antibiotici koji inhibiraju sintezu proteina | | | |
| Skupina | Predstavnici | Mehanizam | Antimikrobni spektar |
| aminoglikozidi | streptomycin gentamicin tobramicin amikacin neomicin spektinomycin | ireverzibilno vezanje na 30S podjedinicu ribosoma, ne može doći do translacije – zaustavljena sinteza proteina | G- aerobne i neke G+ streptomycin: infektivni endokarditis uzrokovan streptokokima/enterokokima (u kombinaciji s β-laktamskim antibioticima ili vankomicinom) gentamicin, tobramicin: stafilokoki, P. aeruginosa, Enterobacteriaceae i još neke G- amikacin: G- koji su rezistentni na ostale aminoglikozide neomicin: G+, G-, neke mikobakterije (P. aeruginosa i streptokok rezistentni) Spektinomycin: gonoreja rezistentna na lijekove ili kod alergičnih na penicilin |

| | | | |
|----------------|---|--|---|
| tetraciklini | tetraciklin doksiciklin minociklin tigeciklin (glicilciklin) | vezanje na 30S podjedinicu ribosoma, spriječen rast peptidnog lanca – zaustavljena sinteza proteina | mikoplazme, ureaplazme, klamidije, rikecije, spirohete, H. pylori minociklin: MDR A. baumannii tigeciklin: stafilokoki (MRSA), enterokoki, MDR iz roda Enterobacterales, anaerobi (za sojeve rezistentne na druge tetracikline) |
| makrolidi | eritromicin klaritromicin azitromicin telitromicin fidaksomicin | vezanje na 50S podjedinicu ribosoma i blokiranje translokacije – zaustavljena sinteza proteina | G+, neke G-, klamidije, rikecije, treponeme |
| linkozamidi | linkomicin klindamicin | vezanje na 50S podjedinicu ribosoma i blokiranje translokacije – zaustavljena sinteza proteina | S. aureus (MRSA), S. pneumoniae, S. pyogenes, B. fragilis, C. perfringens |
| amfenikoli | kloramfenikol | vezanje na 50S podjedinicu ribosoma i spriječavanje elongacije peptidnog lanca – zaustavljena sinteza proteina | široki spektar djelovanja na aerobne i anaerobne G+ i G-, rikecije |
| streptogramini | kvinupristin + dalfopristin (pristinamicin) | vezanje na 50S podjedinicu ribosoma – zaustavljena sinteza proteina | MRSA, VREfm, rezistentni sojevi S. pneumoniae |
| oksazolidinoni | linezolid tedizolid | vezanje na 50S podjedinicu ribosoma – zaustavljena sinteza proteina | MRSA, VREfm |

4.6. Nove terapijske mogućnosti u liječenju infekcija uzrokovanih ESKAPE patogenima

Unatoč stalnom porastu antimikrobne rezistencije, kao i svjesnosti o posljedicama koje ona nosi, razvoj novih antibakterijskih lijekova ne prati uzlazne trendove. Farmaceutska industrija ne pokazuje preveliki interes za istraživanjem novih antibiotika za što postoji nekoliko mogućih razloga. Liječenje antibioticima uglavnom traje kratko, a osim toga antibiotici su generalno jeftini lijekovi zbog čega farmaceutske kompanije ne mogu isplatiti trošak razvoja novog lijeka. Dodatno, novorazvijeni antibakterijski lijekovi se većinom koriste kao zadnja, odnosno rezervna opcija (last-resort) u liječenju, čime se profit za farmaceutsku kompaniju dodatno marginalizira.

U nastavku ćemo prikazati najnovije registrirane lijekove te neke koji su još u fazama razvoja. Važno je napomenuti da je većina lijekova u razvoju mehanizmom djelovanja analogna već do sad razvijenim antibioticima.

Osim lijekova u različitim fazama razvoja, prikazat ćemo i neke alternativne farmakološke mogućnosti koje pokazuju potencijal u terapiji ovih infekcija.

4.6.1. Novoregistrirani lijekovi i lijekovi u fazama razvoja

4.6.1.1. Plazomicin (Zemdri)

Plazomicin spada u skupinu aminoglikozida, antibiotika čije je vezno mjesto na 30S podjedinici ribosoma. Njegovim vezanjem sprječava se translacija, odnosno sinteza bakterijskih proteina (Beauduy i Winston, 2020). Američka agencija za hranu i lijekove (U.S. Food And Drug Administration - FDA) odobrila je ovaj lijek 2018. godine za terapiju kompliciranih infekcija urinarnog trakta i akutnog pijelonefritisa uzrokovanih MDR sojevima roda Enterobacterales, za pacijente starije od 18 godina. Studije su pokazale da je primjena plazomicina jednom dnevno jednako učinkovita kao i primjena meropenema tri puta dnevno, a također je pokazano da je plazomicin učinkovitiji od meropenema u eradikaciji ESBL i aminoglikozidi-rezistentnih sojeva bakterija iz roda Enterobacterales – primjerice: *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *E. cloacae*, CRE (Wagenlehner i sur., 2019). Plazomicin nije registriran na području Europe (ema.europa.eu).

4.6.1.2. Eravaciklin (Xerava)

Eravaciklin je analog tetraciklina, antibiotika koji se kao i aminoglikozidi vežu za 30S podjedinicu bakterijskog ribosoma. Vezanjem se sprječava elongacija rastućeg peptidnog lanca i sinteza bakterijskih proteina (Beauduy i Winston, 2020). Lijek je odobren i od strane FDA i EMA u 2018. godini za terapiju kompliciranih intraabdominalnih infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim i gram-negativnim ESKAPE patogenima, uključujući CRE, CRAB i sojeve roda Enterobacterales koji proizvode ESBL (Solomkin i sur., 2019; Snyderman i sur., 2018.).

4.6.1.3. Omadaciklin (Nuzyra)

Kao i eravaciklin, omadaciklin je također analog tetraciklinskih antibiotika. Lijek je 2018. odobrila FDA za područje SAD-a, za liječenje infekcija uzrokovanih gram-pozitivnim i gram-negativnim ESKAPE patogenima – pneumonije, komplicirane i nekomplikirane infekcije mokraćnog sustava te infekcije kože i mekih tkiva (Dougherty i sur., 2019). Na području Europe ovaj lijek nije registriran (ema.europa.eu).

4.6.1.4. Lefamulin (Xenleta)

Lefamulin je derivat pleuromutilina, antibiotika koji pokazuje dobru učinkovitost u borbi s gram-pozitivnim bakterijama. Djeluje tako da vezanjem na 50S podjedinicu bakterijskog ribosoma sprječava sintezu proteina. Lefamulin je u studijama pokazao zadovoljavajuću učinkovitost u liječenju pneumonija uzrokovanih CA-MRSA sojevima. Registriran je i na području SAD-a i EU-a (Alexander i sur., 2019; ema.europa.eu).

4.6.1.5. Lascufloksacin (Lasvic)

Lascufloksacin nova je molekula u klasi fluorokinolona, sintetskih antibakterijskih lijekova koji vezanjem na topoizomerazu II i IV sprječavaju replikaciju DNA. Odobrila ga je 2019. Japanska PMDA (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) za liječenje CA bakterijske pneumonije uzrokovane sojevima MRSA, *S. pneumoniae* i *Klebsiella* spp. rezistentnih na fluorokinolone (Furuie i sur., 2018). Lijek nije registriran na području Europe i SAD-a.

4.6.1.6. Cefiderokol (Fetroja)

Cefiderokol je najnovije razvijen cefalosporin. Jedinstven je po svom mehanizmu ulaska u gram-negativnu bakterijsku stanicu. Cefiderokol ima strukturu kojom oponaša siderofore – strukture važne za vezanje i unos željeza u bakterijsku stanicu, na taj način vara bakteriju i ulazi u stanicu (Sato i Yamawaki, 2019). U stanici se veže za PBP i ostvaruje sve učinke kao i ostali antibiotici iz klase cefalosporina/ β -laktama. Pokazuje dobru kliničku učinkovitost u liječenju infekcija uzrokovanih gram-negativnim patogenima poput CRE, CRAB i CRPA, naročito kod težih bubrežnih infekcija (Bonomo, 2019). Lijek je odobren na području Europe i SAD-a (ema.europa.eu).

4.6.1.7. Murepavadin (POL7080)

Murepavadin možemo smatrati antibiotikom s novim mehanizmom djelovanja koji je trenutno u fazi III kliničkih ispitivanja. Djeluje selektivno na LptD (LPS transport protein D) – proteinski transporter koji ima važnu ulogu u biosintezi lipopolisaharidne ovojnice *P. aeruginosa*, i to sojeva koji su rezistentni na polimiksin te sojeva koji produciraju karbapenemaze (CRPA). Po svojoj je strukturi peptid, odnosno peptidomimetik i prvi je lijek koji ima djelovanje na vanjsku membranu gram-negativne bakterije. U ispitivanju je formulacija u obliku aerosola za terapiju nozokomijalnih i kroničnih infekcija uzrokovanih *P. aeruginosa* (Martin-Loeches i sur., 2018).

4.6.1.8. Brilacidin

Brilacidin je mimetik defenzina (*engl. host defense peptides – HDP*), malih peptida koji su prisutni u neutrofilima i mukozni, a služe kao prva linija obrane od stranih patogena (Magana i sur., 2020). Trenutno je u fazi II kliničkih studija, a pokazuje učinkovitost u djelovanju i na gram-pozitivne i gram-negativne patogene (Tang i sur., 2006).

4.6.1.9. Analози polimiksina – SPR206 i SPR741

Polimiksin E (kolistin) je vrlo stari antibiotik koji se zbog nefrotoksičnosti pri sistemske primjeni godinama koristio isključivo topikalno. Budući da se rezistencija na njega javljala rijetko, pojavom MDR sojeva porastao je interes za kolistin i koristi se kao last-resort opcija u borbi protiv teških bakterijskih infekcija uzrokovanih bakterijama *P. aeruginosa*, *A. baumannii* i *Enterobacteriaceae* (Beauduy i Winston, 2020). U fazi I razvoja dvije su molekule analozi polimiksina – SPR206 i SPR741, a modificirane su na način da im se poboljša sigurnost, poglavito u vidu nefrotoksičnosti (Corbett i sur., 2017).

4.6.2. Kombinacija više lijekova

Monoterapija u liječenju bakterijskih infekcija često ne pokazuje (zadovoljavajuću) učinkovitost. Kombinacijom već postojećih antibakterijskih lijekova ili kombinacijom antibakterijskog s nekim lijekom koji nema (značajan) antibakterijski učinak, ali na neki način pojačava učinak antibakterijskog lijeka, može se postići povoljniji učinak u ishodu terapije.

Lijekove koji pomažu antibakterijskim lijekovima nazivamo adjuvantnim lijekovima, a možemo ih podijeliti u dvije skupine: klasa I adjuvantni lijekovi koji sami djeluju na patogen (moguće imaju slabi antibakterijski učinak) i klasa II adjuvantni lijekovi koji pospješuju djelovanje antibakterijskog lijeka različitim mehanizmima (Tyers i Wright, 2019).

4.6.2.1. Adjuvantni lijekovi klase I

Klasa I adjuvantnih lijekova poznata je i koristi se već godinama. Najpoznatiji primjer su inhibitori β -laktamaze, koje možemo smatrati klinički najkorištenijem „pomoćnike“ antibioticima (Gonzales-Bello, 2017). Takve „pomoćne lijekove“ često u literaturi možemo naći i pod nazivom antibiotic resistance breakers (ARB), budući da inhibiraju enzime koji bakterijama omogućuju otpornost prema antibioticima.

β -laktamaze su enzimi koje neke bakterije proizvode kao mehanizam obrane od antibiotika koji u svojoj strukturi imaju β -laktamski prsten. Serinske- β -laktamaze (SBL) u aktivnom mjestu imaju aminokiselinu serin čija alkoholna skupina nukleofilno napada β -laktamski prsten, kao međuprodukt nastaje ester koji zatim brzo hidrolizira, a molekula β -laktamskog antibiotika koja se otpušta je hidrolizirana i time inaktivirana, dok se enzim β -laktamaza regenerira. Serinske β -laktamaze se dijele na klase A, C i D prema Ambleru, a na njih djeluju inhibitori poput klavulanske kiseline (koristi se u kombinaciji s amoksicilinom ili tikarcilinom), sulbaktama (koristi se u kombinaciji s ampicilinom ili cefoperazonom) i tazobaktama (koristi se u kombinaciji s piperacilinom). Svi navedeni inhibitori imaju β -laktamsku strukturu. Metalo- β -laktamaze (MBL) u aktivnom mjestu imaju cink i čine klasu B prema Ambleru za koje do današnjeg dana nema razvijenog inhibitora (Gonzales-Bello 2017; Drawz i sur., 2013; Leonard i sur., 2013). U tablici 5. prikazana je klasifikacija prema Ambleru nekih najvažnijih β -laktamaza.

Tablica 5. Klasifikacija najvažnijih β -laktamaza prema Ambleru (preuzeto i prilagođeno prema Tooke i sur., 2019)

| Klasa prema Ambleru | | Naziv enzima | Klinička važnost | |
|------------------------------------|----------------------------------|--|--|---|
| serinske- β -laktamaze (SBL) | A | PC1 | rezistencija S: aureus na penicilin | |
| | | TEM | rezistencija na aminopeniciline i ranije gen. cefalosporina kod G- | |
| | | SHV | rezistencija K. pneumoniae | |
| | | CTX-M (cefotaksimaza) | rezistencija na cefotaksim | |
| | | KPC | rezistencija K. pneumoniae na karbapeneme | |
| | C | AmpC CMY-10 FOX DHA ADC-68 | rezistencija na cefalosporine u Enterobacteriaceae, P. aeruginosa i A. baumannii | |
| | | D | OXA-23 OXA-24/40 OXA-58 | rezistencija A. baumannii na karbapeneme |
| | | | B | NDM |
| | metalo- β -laktamaze (MBL) | VIM | | rezistencija P. aeruginosa na karbapeneme |

Razvijeno je i nekoliko inhibitora β -laktamaze koji nemaju β -laktamsku strukturu. Avibaktam u kombinaciji sa ceftazidimom (FDA odobrila 2014.) koristi se u terapiji kompliciranih intraabdominalnih i urinarnih infekcija (Lagace-Wiens i sur., 2014). Pokazao je dobru inhibitornu učinkovitost na β -laktamaze klase A i C, međutim nedovoljno dobru na OXA-23 i OXA-24 koje su među važnijim enzimima odgovornim za rezistenciju na karbapeneme kod *A. baumannii* (Vazquez-Ucha i sur., 2017). Trenutno su u fazama kliničkih studija dvije kombinacije avibaktama, od kojih je kombinacija sa ceftarolin fosamilom kandidat za liječenje MDR infekcija (Leone i sur., 2019; Gonzales-Bello 2017). Strukturu srodnu avibaktamu ima relebaktam o kojem će biti više riječi kasnije. Treba još spomenuti vaborbaktam, derivat boronske kiseline. Njegova kombinacija s biapenemom je trenutno u fazi III kliničkih ispitivanja za liječenje infekcija uzrokovanih sojevima Enterobacteriaceae koji produciraju KPC (Goldstein i sur., 2013; Hecker i sur., 2015).

Najviše zabrinjavaju β -laktamaze klase A, B i D koje uzrokuju hidrolizu karbapenema, last-resort lijekova za većinu ESKAPE patogena.

U nastavku će biti prikazano nekoliko kombinacija koje su nedavno registrirane ili su trenutno u fazama razvoja, a pokazuju potencijal u terapiji infekcija uzrokovanim ESKAPE patogenima (tablica 6.).

Tablica 6. Kombinacije antibiotika i adjuvantnih lijekova koje su nedavno odobrene ili su u nekoj od fazi kliničkih ispitivanja (preuzeto i prilagođeno iz Oliveira i sur., 2020)

| Kombinacija | Klase lijekova/mehanizmi | Faza razvoja | Antimikrobni spektar |
|---|--|--|--|
| imipenem cilastatin relebaktam | β -laktam (karbapenem) inhibitor dihidropeptidaze inhibitor β -laktamaze | FDA odobrila 2019. EMA odobrila 2020. | CRE, CRPA |
| meropenem vaborbaktam | β -laktam (karbapenem) inhibitor β -laktamaze | FDA odobrila 2017. EMA odobrila 2018. | <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , CRE |
| cefepim AAI101 | β -laktam (cefalosporin) inhibitor β -laktamaze | Faza III | CRE |
| cefepim taniborbaktam | β -laktam (cefalosporin) inhibitor β -laktamaze | Faza III | ESBL, KPC, OXA, NMD i VIM producirajući <i>P. aeruginosa</i> |
| sulbaktam | inhibitor β -laktamaze | Faza III | CRAB |

| | | | |
|--|--|--------|---------------------------------------|
| durlobaktam | | | |
| cefepim zidebaktam | β -laktam (cefalosporin) inhibitor β -laktamaze | Faza I | ESKAPE, pneumokoki, streptokoki |
| cefpodoksim proksetil ETX0282 | β -laktam (cefalosporin) inhibitor β -laktamaze | Faza I | MDR A. baumannii, CRAB |
| meropenem nakubaktam | β -laktam (karbapenem) inhibitor β -laktamaze | Faza I | CRE, CRPA |

4.6.2.1.1. Imipenem-cilastatin-relebaktam (Recarbrio)

Kombinaciju imipenema, cilastatina i relebaktama odobrila je 2019. FDA, a 2020. EMA, u svrhu liječenja kompliciranih infekcija urinarnog trakta te intraabdominalnih infekcija uzrokovanih gram-negativnim ESKAPE patogenima – E. cloacae, K. pneumoniae, K. aerogenes (CRE) i P. aeruginosa (CRPA), kod pacijenata koji imaju ograničene terapijske opcije (www.merckconnect.com).

Imipenem spada u klasu karbapenema, širokospektralnih β -laktamskih antibiotika, koji se smatraju zadnjom opcijom u liječenju infekcija uzrokovanih MDR sojevima. Cilastatin i relebaktam imaju ulogu pojačavanja djelovanja imipenema na različite načine: cilastatin je inhibitor dehidropeptidaze koja razgrađuje imipenem i na taj ga način inaktivira, a dodatno nastaju i nefrotoksični metaboliti, dok je relebaktam novija generacija inhibitora β -laktamaze koja razgrađuje β -laktamski prsten imipenema (ema.europa.eu).

4.6.2.2. Adjuvantni lijekovi klase II

Adjuvantni lijekovi klase II različitim mehanizmima poboljšavaju djelovanje antibiotika na određenu metu – najčešće moduliranjem odgovora domaćina (čovjeka). Pokazat ćemo to na nekoliko primjera.

Na modelu miša istraživana je kombinacija derivata TPFI-2 (host-tissue factor pathway inhibitor - 2) – EDC34 peptid u kombinaciji sa cefalosporinom ceftazidimom. Peptid kao imunomodulator ima ulogu smanjiti upalni odgovor, a pokazalo se da postoje i još neki dodatni mehanizmi koji poboljšavaju antibakterijsku učinkovitost (Papareddy i sur., 2013).

Još jedan način na koji možemo djelovati je tako da uporabom malih molekula specifično ciljamo na odgovor urođene imunosti. Pokazalo se da streptazolin može potaknuti makrofage na uništavanje *S. pneumoniae* (Perry i sur., 2015).

S obzirom da svaki patogen koristi određene nutrijente za svoj rast i razvoj, jedna od mogućnosti mogla bi biti i modifikacija mikrokoliša domaćina kojeg patogen nastanjuje (Dhanda i sur., 2023).

4.6.3. Alternativne mogućnosti

S obzirom na sve dosad navedene probleme, velika je vjerojatnost da ćemo se u doglednoj budućnosti morati okrenuti alternativnim pristupima – bilo u vidu samostalne terapije ili pomoćne terapije antibioticima. Niže navedene terapijske opcije trenutno nisu dostojna zamjena antibioticima niti još postoji dovoljna potreba za njihovom upotrebom, ali pitanje je vremena kad će postati, a istraživanja u tom smjeru svakako zahtijevaju veće financijske napore s obzirom na napredniju tehnologiju njihova razvoja.

U nastavku ćemo prikazati neke od alternativnih mogućnosti koje pokazuju dobru *in vitro* učinkovitost, dok je *in vivo* učinkovitost uglavnom i dalje u fazama istraživanja. Najveća su prepreka prvenstveno visoke cijene ulaganja u istraživanja, ali i visoke pojavnosti nuspojava, odnosno zabrinutosti zbog sigurnosti ispitanika koji bi bili uključeni u završne faze.

4.6.3.1. Prenamjena postojećih lijekova

S obzirom na visoke cijene otkrića i razvoja novih antibiotika, prenamjena već postojećih lijekova mogla bi biti efikasno oružje u borbi protiv MDR sojeva. Osim uštede novca, ovakvim se pristupom štedi i vrijeme, kao i svi drugi potencijalni rizici za farmaceutsku industriju koja ulaže u novi lijek.

Prikazat ćemo primjere nekoliko lijekova koji su već pokazali *in vivo* učinkovitost u djelovanju na ESKAPE patogene:

Glatiramer acetat (Copraxone) koji je registriran za liječenje relapsnih oblika multiple skleroze pokazao je dobru antibakterijsku aktivnost na *E. coli*, *A. baumannii* i *P. aeruginosa* kod pacijenata s cističnom fibrozom (Christiansen i sur., 2017).

Ebselen, sintetski protuupalni lijek s antioksidativnim učinkom, zatim protutumorski lijekovi adaroten i floksuridin, također su pokazali baktericidni učinak na MRSA i VRSA sojeve (Kim i sur., 2018; Younis i sur., 2015).

4.6.3.2. Bakteriofagi

Bakteriofagi su se u liječenju bakterijskih infekcija primjenjivali još na početku 20. st., međutim otkrićem penicilina pali su u drugi plan (Abedon i sur., 2011). Porastom AMR diljem svijeta, značaj bakteriofaga ponovno dolazi do izražaja.

Bakteriofagi (fagi) su virusi koji inficiraju bakterije. Sastoje se od glave s proteinskom ovojnicom – kapsidom, u kojoj se nalazi nukleinska kiselina (RNA ili DNA), a na nju se nastavlja rep na čijem su kraju fibrile pomoću kojih se bakteriofagi specifično vežu na površinu bakterijske stanice (Kalenić i sur., 2019), stoga valja naglasiti da pojedinu vrstu bakteriofaga karakterizira specifičnost za pojedinu vrstu bakterija, što znači da bismo korištenjem bakteriofaga mogli postići selektivno djelovanje na pojedine sojeve.

S obzirom na životni ciklus bakteriofaga, dva su moguća puta nakon što fag unese svoj genetski materijal u bakterijsku stanicu. Na temelju toga možemo fage klasificirati na litičke (virulentne) i lizogene (umjerene) (Ly-Chatain, 2014). Cilj i jednog i drugog puta je isti, a to je umnažanje virusa. U litičkom ciklusu nakon što se fag veže za bakteriju i ubaci svoj genetski materijal u nju, dolazi do umnažanja genetskog materijala faga i sinteze proteina faga. Slijedi sastavljanje virusne čestice i oslobađanje novih faga u okolinu bakterijske stanice koja je lizirana pod pritiskom novonastale količine faga. Lizogeni bakteriofagi svoj genetički materijal integriraju u genom stanice koju su inficirali ili on ostane u citoplazmi u obliku plazmida. U oba navedena slučaja različitim mehanizmima stanice domaćina dolazi do umnažanja takvih genetičkih struktura koje se onda vertikalnim prenose na stanice kćeri, odnosno na iduću

generaciju, a plazmidi se mogu prenositi i horizontalno među različitim bakterijskim vrstama (Kalenić i sur., 2019).

Ono što bi kod primjene bakteriofaga u liječenju bakterijskih infekcija moglo biti problematično jest sposobnost bakterija da razviju rezistenciju i na bakteriofage, a u nastavku ćemo prikazati nekoliko mehanizama kojima to ostvaruju. U nekoliko je istraživanja pokazano da se neke bakterije iz rodova *Klebsiella* i *Staphylococcus* mogu obraniti već od samog vezanja faga na svoju površinu (adhezija), tako što na svojoj površini u većoj mjeri izlučuju određene tvari koje maskiraju receptore. Moguće je i da uslijed mutacije dođe do promjene u strukturi receptora. Osim navedenog, neke bakterije imaju različite restriksijske endonukleaze koje mogu ukloniti stranu DNA iz citoplazme i na taj način spriječiti sve daljnje procese (Bikard i Marraffini, 2012). Opisan je i sustav prilagodljive imunosti, tzv. CRISPR/Cas (*engl. Clustered regularly interspaced short palindromic repeat*) koji bakteriji koja je preživjela infekciju fagom omogućava da pohrani informaciju o tom kontaktu (Barrangou, 2013).

Treba napomenuti da bakteriofagi ne ostaju dužni - i oni imaju odgovor na bakterijsku rezistenciju. Primjerice, neki fagi posjeduju enzime pomoću kojih mogu razgraditi izvanstanični matriks prisutan u strukturi biofilma (Bruessow, 2013), mogu prilagoditi strukturu svojih proteina koji se vežu na receptore na površini bakterije (Samson i sur., 2013), a mogu prevladati i CRISPR/Cas sustav (Bondy-Denomy i sur., 2012).

Iz svega navedenog možemo zaključiti da među bakterijama i bakteriofagima traje vječita borba za opstankom, a sve to ide u prilog razvoju bakteriofaga kao glavnog oružja u borbi s bakterijskim infekcijama. Osim toga, bakteriofagi su široko rasprostranjeni u prirodi pa se mogu lako izolirati iz okoliša zbog čega su lako dostupni za pripravu (Huang i sur., 2022). Komercijalno se pripravci bakteriofaga već koriste u poljoprivredi i prehrambenoj industriji, uglavnom kao preventivni pripravci za ograničavanje rasta i kontraminacije hrane bakterijama. U terapiji bakterijskih infekcija koristili bi se litički fagi gdje lizom bakterijske stanice dolazi do oslobađanja velikog broja novih virusnih čestica. Na taj bi način velik broj virusnih čestica mogao inficirati velik broj bakterijskih čestica. Moguća su dva principa primjene: (I) aktivni tretman gdje se unosi titar faga koji sam po sebi nema šanse za uništavanje željenih bakterijskih stanica, ali se očekuje veliko povećanje broja nakon umnažanja na mjestu djelovanja, te (II) pasivni tretman gdje se odmah unosi titar faga koji je po broju dovoljan da savlada broj prisutnih bakterija (Abedon 2017).

Način primjene također ima značajan utjecaj na apsorpciju i učinkovitost faga. Pokazalo se da je najbolji način parenteralna primjena, čime se može postići ciljana dostava faga u praktički bilo koje tkivo u jako kratkom vremenu (Huang i sur., 2022).

U tijeku je veći broj istraživanja kojima je cilj ispitati djelotvornost bakteriofaga, odnosno koktela nekoliko vrsta faga, upravo u terapiji infekcija uzrokovanih MDR sojevima, naročito ESKAPE patogena (Huang i sur., 2022). U tablici 7. prikazani su neki od mnogih, s djelovanjem na bakterijske vrste koje spadaju u ESKAPE.

Tablica 7. Bakteriofagi u fazama istraživanja (preuzeto i prilagođeno prema Huang i sur., 2022)

| bakterijska meta | naziv | status | način primjene |
|------------------|------------------------------------|---|---|
| Enterococcus | VRELysin | nedefiniran | nedefiniran |
| S. aureus | AP-SA01, AP-SA02 N-Rephasin | FDA odobrila Faza II | i.v. |
| K. pneumoniae | BX003 | Faza I | oralno |
| P. aeruginosa | AP-PA02 PGX0100 Pneumo Phage | FDA odobrila FDA odobrila Faza I/II | inhalacijski transdermalno inhalacijski |

Bakteriofagi su u svakom slučaju značajna terapijska opcija u liječenju bakterijskih infekcija, bilo kao monoterapija ili kao potpora antibiotskoj konvencionalnoj terapiji. Posebice tome doprinosi njihova pogodnost za manipulaciju genetičkim inženjerstvom, široka rasprostranjenost u okolišu, visoka specifičnost za metu (manje nuspojava, ne djeluju na mikrobiotu GIT-a) te relativno mala vjerojatnost razvoja rezistencije.

4.6.3.3. Monoklonska protutijela

Monoklonska protutijela (*engl. monoclonal antibody - mAb*) već se neko vrijeme uspješno koriste u liječenju neinfektivnih bolesti poput različitih vrsta karcinoma i autoimunih bolesti. Protutijela ili imunoglobulini su po svojoj strukturi glikoproteini koji pokazuju visoku selektivnost prema određenom antigenu (Ag), odnosno specifičnom dijelu antigena – epitopu na koji se vežu i aktiviraju različite imunosne puteve obrane (Henrique i sur., 2022). Pretpostavljeni mehanizam djelovanja mAb u liječenju infektivnih oboljenja temelji se na

inhibiciji bakterijskih čimbenika virulencije, ali i privlačenju komponenti imunskog sustava važnih u fagocitozi patogena i direktnom ciljanju patogena (Pai i sur., 2009).

Pretpostavka o uspješnosti terapije infekcija uzrokovanih rezistentnim bakterijskim sojevima temelji se na činjenici da se upotrebom mAb može postići ciljano djelovanje na određeni soj, bez djelovanja na „dobre bakterije“ u probavnom sustavu čovjeka, a dodatna je prednost što kod primjene monoklonskih protutijela postoji manja mogućnost razvijanja rezistencije (McConnell, 2019).

Trenutno su odobrena tri monoklonska protutijela u terapiji infektivnih bolesti (FDA), međutim nijedno od njih nema indikaciju za neki od ESKAPE patogena – raxibacumab i obiltoxaximab u liječenju antraksa uzrokovanog *B. anthracis*, i bezlotoxumab u profilaksi rekurente infekcije *C. difficile* kod visokorizičnih pacijenata (Hou i Morrill 2017; Kufel i sur, 2017; Tsai i Morris, 2015).

U tijeku je evaluacija tri monoklonska protutijela u svrhu liječenja infekcija uzrokovanih MDR sojevima *P. aeruginosa*. To su panobacumab, KB001 i MEDI3902.

Panobacumab je IgM monoklonsko protutijelo koje je trenutno u fazi II kliničkih ispitivanja, a ciljna meta mu je lipopolisaharid, ključan za „skrivanje“ bakterije od našeg imunskog sustava. Kod pacijenata s nozokomijalnom pneumonijom uzrokovanom *P. aeruginosa* određenog serotipa (O-antigen – O11 pneumonija) pokazao je sigurnost i dobru toleranciju te ranije ozdravljenje u odnosu na konvencionalne metode (Motley i sur., 2019; Lazar i sur., 2009; Lu i sur., 2011).

KB001 je pegilirano monoklonsko protutijelo usmjereno na PcrV protein, proteinsku podjedinicu T3SS (*engl. type 3 secretion system*), koja je važan čimbenik virulencije jer omogućuje dostavu egzotoksina u ciljnu stanicu. Za KB001 dokazana je učinkovitost u prevenciji pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom (*engl. ventilator associated pneumonia*) (Francois i sur., 2012; Frank i sur., 2002).

MEDI3902 je bivalentno monoklonsko protutijelo koje je usmjereno na neutralizaciju već spomenutog PcrV proteina, a dodatno se veže i na PsI, egzopolisaharid koji je bitan čimbenik virulencije u kolonizaciji i adherenciji na različita tkiva. Trenutno je u fazi II kliničkih ispitivanja, kao i KB001, u profilaktičkom režimu za pneumonije povezane s mehaničkom ventilacijom (DiGiandomenico i sur., 2012; www.combacte.com).

Osim kao opća terapija, monoklonska protutijela mogla bi se koristiti i u kombinaciji s već dostupnim antibioticima. Pokazalo se da takva kombinacija ima sinergistički i aditivni učinak, čime se omogućuje korištenje manje doze antibiotika, što bi smanjilo selektivni pritisak na bakterije te posljedično smanjilo brzinu nastanka rezistencije (Zurawski i McLendon, 2020;

Garcia-Quintanilla i sur., 2016). Dodatna prednost korištenja monoklonskih protutijela u terapiji njihovo je dugo poluvrijeme života, pogotovo u odnosu na konvencionalnu terapiju (Zurawski i McLendon, 2020; De Vlieger i sur., 2019; McConnell 2019).

Neki od nedostataka primjene protutijela u terapiji su složenost pripreme takvog lijeka, nužno točno poznavanje uzročnika infekcije i to poželjno u što kraćem vremenskom roku jer se pokazalo da je učinkovitost terapije bolja što se ranije s njom krene, zbog intravenske primjene nužna hospitalizacija. Dodatno, uz primjenu monoklonskih protutijela nužno vežemo visoke cijene, pogotovo u odnosu na dostupnu jeftinu terapiju (Antonelli i sur., 2021; Casadevall i sur., 2004).

4.6.3.4. Cjepivo

Iako trenutno ne postoji nijedno registrirano cjepivo za ESKAPE patogene, ne može se poreći da bi ono teoretski zasigurno moglo pomoći utišavanju prijetnje MDR sojeva i to iz nekoliko razloga. Pokazalo se primjerice da se cijepljenjem protiv virusa influence značajno smanjuju simptomi vrućice i općeg lošeg stanja (naročito kod starije populacije), čime se izbjegava nepotrebno propisivanje i upotreba antibiotika (u svrhu liječenja virusne infekcije ili prateće bakterijske infekcije) (Kwong i sur., 2009).

Jedan od pokušaja bilo je cjepivo SA4Ag – *S. aureus* 4-antigen, kao prevencija infekcije invazivnim sojevima *S. aureus*. Cjepivo se sastojalo od kapsularnog polisaharida serotipova 5 i 8 konjugiranih na netoksični mutantni oblik difterija toksina (CRM197), rekombinantnog mutantnog faktora A (ClfA) i rekombinantnog manganskog transportera C (MntC). Nažalost, cjepivo nije pokazalo zadovoljavajuću učinkovitost u kliničkim studijama (Creech i sur., 2017).

U fazi pretkliničkih ispitivanja je trenutno nekoliko cjepiva koja su pokazala in vitro učinkovitost protiv karbapenem-rezistentnih sojeva *K. pneumoniae* (CRKP), *P. aeruginosa* i *A. baumannii* (Hoggarth i sur., 2019; Ainswort i sur., 2017; Seeberger i sur., 2017).

4.6.3.5. Modulacija i transplantacija fekalne mikrobiote (FMT strategija)

Mikrobiota probavnog sustava je dinamički sustav koji se tijekom života neprestano mijenja, ovisno o brojnim faktorima (prehrana, stil života, lijekovi), a osim toga rezervoar je gena za rezistenciju, tzv. rezistom. Takav okoliš pogoduje prijenosu rezistentnih gena s vrste na vrstu putem pokretnih genetičkih elemenata (Merrick i sur., 2023). Gram-negativne Enterobacterales su pogotovo sklone dijeljenju ARG (engl. antibiotic resistance genes), a znamo da su u visokim koncentracijama prisutne u donjem dijelu GIT-a (Lanza i sur., 2015;

Karami i sur., 2007). Stoga se probavni sustav nameće kao izuzetno važna meta u uništavanju rezervoara antimikrobne rezistencije (Merrick i sur., 2023).

Postoji nekoliko mehanizama koje bismo mogli iskoristiti:

Pokazalo se da naša „autohtona“ mikrobiota može služiti kao dobra barijera u obrani od patogena. Kolonizacijom probavnog sustava našim bakterijama može se direktno inhibirati rast drugih bakterija jednostavnim kompetitivnim mehanizmom – borbom za nutrijente. Osim toga, bakterije mogu proizvoditi različite tvari poput antimikrobnih peptida koje mogu pomoći u borbi protiv patogena. Probavni je sustav bogat bakteriofagima, virusima koji mogu biti specifični za bakterijske mete kojih se želimo riješiti, a moguće je i modulacijom mikrobiote probavnog sustava ograničiti količinu dostupnog kisika, pojačati funkciju mukoznih barijera i potaknuti bolji imunski odgovor (Merrick i sur., 2023).

Upotrebom antibiotika može se značajno promijeniti struktura i funkcija probavne mikrobiote što može omogućiti prodor patogenima. Modulacijom mikrobiote možemo spriječiti kolonizaciju probavnog sustava infektivnim patogenima, smanjiti broj patogena koji su se već nastanili ili smanjiti simptome uzrokovane njihovom kolonizacijom. Modulaciju mikrobiote možemo postići promjenom prehrane ili primjenom prebiotika, probiotika ili sinbiotika, a u nastavku ćemo se osvrnuti na transplantaciju fekalne mikrobiote (engl. faecal microbiota transplantation – FMT) u svrhu eradikacije kolonizacije probavnog sustava rezistentnim sojevima bakterija (Merrick i sur., 2023).

Transplantacija fekalne mikrobiote podrazumijeva proces kojim se stolica zdravog donora infuzijom tekućeg filtrata stolice prijenosi u crijevo primatelja kako bi se normalizirala crijevna flora. Ovaj je način liječenja indiciran za pacijente s rekurentnom infekcijom *Clostridioides difficile* (Mullish i sur., 2018).

Prema Merricku i suradnicima (2023), teško je u ovom trenutku doći do konkretnih zaključaka oko potencijalne pozitivnih učinaka upotrebe fekalne transplantacije u postizanju smanjenja antimikrobne rezistencije, s obzirom da je većina studija tek u tijeku, stoga nam samo preostaje da se nadamo da će rezultati biti u skladu sa željenim.

4.6.3.6. Nanočestice srebra i drugi metalni agensi

U tijeku je puno studija s ciljem ispitivanja potencijalnog antimikrobnog učinka lijekova koji u svojoj strukturi imaju neki metal, od kojih se najčešće koriste rutenij (Ru), galij (Ga), bizmut (Bi), bakar (Cu) i srebro (Ag) (Breijyeh i sur., 2020).

4.6.3.6.1. Rutenij

Nekoliko je studija potvrdilo antimikrobni učinak luminescentnih kompleksa rutenija. Smitten i suradnici (2019) pokazali su učinkovitost protiv gram-negativnih bakterija, mehanizmom uništavanja bakterijske stijenke, dok su Abebe i suradnici (2016) testirali antibakterijsku aktivnost dvaju kompleksa rutenija na MRSA soj i na gram-negativne *E. coli* i *K. pneumoniae*. Rezultati su obećavajući jer se pokazalo da ovi kompleksi imaju bolji učinak u usporedbi s kloramfenikolom i ciprofloksacinom.

4.6.3.6.2. Galij

Zbog svoje sličnosti sa željezom, galij (III) se inkorporira u enzime čiji je mehanizam ovisan o redukciji/oksidaciji željeza. S obzirom da se Ga(III) ne može reducirati u Ga(II), enzim je inhibiran. Galij u kompleksu s protoporfirinom IX pokazuje antibakterijski učinak protiv *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* i *A. baumannii*, kao i za neke gram-pozitivne sojeve (Bonchi i sur., 2014). Galij u slobodnom obliku oslobađa se iz Ga(NO₃)₃, spoju koji je trenutno u fazi II kliničkih studija kao intravenski primijenjena terapija kod kroničnih infekcija sa *P. aeruginosa* u pacijenata sa cističnom fibrozom (www.clinicaltrials.gov). 2019. godine Wang i suradnici otkrili su da su dvije podjedinice RNA polimeraze (RpoB i RpoC) u *P. aeruginosa* povezane s galijem i to na način da se vezanjem galija smanjuje transkripcija. Pokazalo se da kombinacija Ga(III) i acetata ima zadovoljavajući učinak u borbi protiv rezistentnih sojeva *P. aeruginosa* (Wang i sur., 2019).

4.6.3.6.3. Bizmut

Bizmut je već prepoznat farmakološki aktivan metal u nekim lijekovima (infekcije *H. pylori*), a pokazalo se da lijekovi s Bi(III) inhibiraju široki spektar metalo-β-laktamaza, zamjenom iona bizmuta s ionima cinka u aktivnom mjestu MBL (Wang i sur., 2018). Fosfinati bizmuta pokazuju dobru učinkovitost protiv gram-pozitivnih MRSA i VRE sojeva (Werrett i sur., 2018).

S obzirom da do sad nema razvijenih inhibitora MBL, spoj s bizmutom u strukturi bi sigurno mogao naći svoje mjesto među novim terapijskim mogućnostima.

4.6.3.6.4. Bakar

Bakar postiže toksični učinak na bakterije tako što proizvodi reaktivne kisikove specije koje inhibiraju njihov rast (Vincent i sur., 2016). Osim što sam pokazuje određeni antibakterijski učinak, pokazuje i dobar sinergistički učinak u kombinaciji s fluorokinolonima

(Živec i sur., 2012). Nedostaci bakra su potreba za transporterima koji će ga unijeti kroz staničnu membranu bakterije kao i činjenica da su bakterije razvile mehanizme rezistencije na toksični učinak bakra (efluksni sustavi kojima se bakar izbacuje iz stanice te detoksifikacija oksidazama) (Thummeepak i sur., 2020).

4.6.3.6.5. Nanočestice srebra

Baktericidni učinak srebra poznat je od davnina, a razvojem nanotehnologije krajem 20. stoljeća srebro se sve više primjenjuje u obliku nanočestica (engl. Ag nanoparticles – AgNP) jer se pokazalo da je tom obliku još jači baktericid (Duran i sur., 2016). Takva se svojstva mogu iskoristiti protiv MDR sojeva *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella enterica* i *Proteus mirabilis*, naročito u kombinaciji s antibioticima (Kareem, 2018.).

Mehanizam baktericidnog učinka nije u potpunosti razjašnjen, ali pretpostavlja se da AgNP otpuštaju ione srebra Ag^+ koji ometaju transport elektrona, signalne puteve ili sudjeluju u procesima koji vode do generiranja reaktivnih kisikovih specija koje uništavaju bakterijske makromolekule (Dakal i sur., 2016). Osim antibakterijskog učinka, AgNP imaju i sposobnost uništenja biofilma, što je važan čimbenik patogenosti brojnih ESKAPE bakterija. Najveća je prepreka u terapijskom potencijalu nanočestica bila potencijalna citotoksičnost zbog mogućnosti prolaska prirodnih barijera i taloženja u tkivima/organima, međutim u in vitro i in vivo studijama dokazana je sigurnost korištenja (Moehler i sur., 2018; Mohanty i sur., 2012).

AgNP već ima značajnu kliničku primjenu u obliku sredstva za oblaganje različitih kardiovaskularnih ili ortopedskih implantanata, venskih i urinarnih katetera, premazima kirurških konaca i instrumenata, poglavito zbog svoj baktericidnog, ali i virustatskog djelovanja (Vance i sur., 2015; Likus i sur., 2013).

Na primjeru mišjeg modela inficiranog s *A. baumannii* pokazan je sinergistički antibakterijski učinak AgNP i polimiksina B (Wan i sur., 2016), međutim unatoč velikom terapijskom potencijalu, do ovog trenutka je napravljeno premalo in vivo studija koje bi neupitno potvrdile učinkovitost i sigurnost primjene nanočestica srebra (Mulani i sur., 2019).

4.6.3.7. Fotodinamička terapija

Fotodinamička terapija (engl. *photodynamic therapy – PDT*) vrsta je fototerapije u kojoj se koriste fotosenzibilizatori koji se pomoći svjetlosti odgovarajuće valne duljine aktiviraju i izazivaju terapijski učinak – uništenje stanica. Ovaj se princip već dulje vrijeme koristi u terapiji tumora i kožnih oboljenja, ali i liječenju nekih infekcija kože i mekih tkiva (Zorc i Rajić, 2011).

Nakon što apsorbira svjetlost, fotosenzibilizator prelazi u pobuđeno tripletno stanje, pri čemu može doći do prijenosa elektrona ili energije na molekularni kisik i nastanka niza reaktivnih kisikovih specija (ROS) koje oštećuju molekule u neposrednoj blizini fotosenzibilizatora (Yang i sur., 2018; Mai i sur., 2017).

Nekoliko tipova fotosenzibilizatora korišteno je u ispitivanjima mogućeg antimikrobnog učinka na ESKAPE patogene, s tim da se posebna pažnja obratila na dizajn fotosenzibilizatora s ciljem povećanja mogućnosti permeabilnosti kroz staničnu stijenku ili membranu bakterije. Osim toga, fotosenzibilizator bi trebao zadovoljiti i neke druge kriterije: postizanje selektivne toksičnosti samo na bakterijsku stanicu, odnosno što manji toksični učinak na okolna tkiva te da nije supstrat efluksnih pumpi koje bi ga mogle izbaciti iz bakterijske stanice (Cieplik i sur., 2018; Hu i sur. 2018). Primjer poboljšanja svojstva fotosenzibilizatora boron-dipirolmetenske strukture je njegovo vezanje u kompleks s galaktozom – nastali spoj nazvan pGEMA-I imao je povećanu topljivost u vodi, nije izazivao štetne učinke na okolna tkiva i pokazivao je dobru antibakterijsku aktivnost protiv *P. aeruginosa*. Pokazano je da je selektivni učinak postignut stvaranjem glikozidne veze između LecA (lektinski protein) bakterije i galaktoznog ostatka fotosenzibilizatora (Zhao i sur., 2018).

Brojnim *in vitro* i *in vivo* istraživanjima potvrđeno je da povoljan antimikrobni učinak protiv ESKAPE patogena i dodatno protiv stvaranja biofilma postiže plava svjetlost (Halstead i sur., 2016). Većina istraživanja ipak se odnosila na površinske infekcije uzrokovane *P. aeruginosa*, stoga ne čudi povoljan učinak na infekciju, s manjim toksičnim učinkom na okolna tkiva, s obzirom da korištena plava svjetlost ne penetrira u dublje slojeve kože/tkiva (Katayama i sur., 2018).

Najviše se istraživanja odnosi na ispitivanja sinergističkog učinak PDT u kombinaciji s antibioticima. Na bakterijskom modelu inficiranom vankomicin-rezistentnim sojevima *E. faecium* pokazana je zadovoljavajuća učinkovitost kombinacije vankomicina i PDT-a (Chibebe Junior i sur., 2013).

Još jedna od strategija postizanja ciljane dostave fotosenzibilizatora uključuje nanočestice koje olakšavaju fotosenzibilizatoru prolazak staničnih barijera bakterije jer uzrokuju njihove disrupcije. *In vivo* i *in vitro* studije pokazuju antimikrobni učinak i učinak uništenja biofilma sinergističkim djelovanjem plave svjetlosti i nanočestica srebra kod infekcija uzrokovanih *P. aeruginosa* (Nour El Din i sur., 2016).

Zbog mogućeg izbacivanja fotosenzibilizatora iz bakterijske stanice djelovanjem efluksnih pumpi, ispitivao se učinak kombinacije s inhibitorima efluksnih pumpi (EPI). Kombinacija toluidin plavog (TBO) fotosenzibilizatora s PaßN ili INF271 (EPI) pokazala je

najbolji učinak protiv izolata *S. aureus* i *P. aeruginosa* (de Aguiar Coletti i sur., 2017). Još je jedan primjer hibridna molekula fotosenzibilizatora metilen plavog kovalentno povezanog s INF66 i INF271, inhibitorima efluksnih pumpi. Molekula je na modelu miša pokazala dobru aktivnost protiv *A. baumannii* i *S. aureus* (Rineh i sur., 2017; 2018).

Fotodinamička terapija, dakle, pokazuje potencijal u liječenju infekcija uzrokovanih ESKAPE patogenima, i to naročito površinskih infekcija kože i mekih tkiva u kombinaciji s antibioticima ili nanočesticama, međutim manjak *in vivo* studija objašnjava nedovoljan klinički značaj ovakvog pristupa (Mulani i sur., 2019).

4.6.3.8. Inhibicija formacije biofilma i produkcije čimbenika virulencije (anti-QS agensi)

Quorum sensing (QS) ili detekcija kvoruma pojam je opisan prije nešto više od 40 godina kod morske bioluminiscentne bakterije *Aliivibrio fischeri* koja živi u simbiozi s havajskom kratkorepom lignjom (Nealson i Hastings, 1979). Možemo ga definirati kao mehanizam komunikacije između bakterija iste vrste ili različitih vrsta. Međustanična komunikacija ima važnu ulogu u nastanku i sazrijevanju biofilma, ali i drugih čimbenika virulencije koji značajno utječu na osjetljivost bakterija na antibiotike (Kalenić i sur., 2019; Stotani i sur., 2018), a ujedno štite bakterije od nepovoljnih promjena u njihovom okolišu. Proces detekcije kvoruma provodi se malim signalnim molekulama koje zovemo autoinduktori (AI). Autoinduktori se sintetiziraju u bakterijskoj stanici nakon čega se izlučuju u okolni medij. Ako u okolnom mediju ima malo bakterija (mala gustoća stanica – engl. low cell density), tada se AI rasprše i njihova je koncentracija u okolini mala, međutim, ako u okolnom mediju ima puno bakterija (velika gustoća stanica – engl. high cell density) i prijeđe se određeni prag, receptori u citoplazmi ili na citoplazmatskoj membrani detektiraju AI. Ti su receptori aktivatori transkripcije i dovode do simultane ekspresije određenih gena u svim bakterijama iste populacije te se na taj način producira neki protein koristan za čitavu populaciju. S obzirom na bitnu ulogu u regulaciji patogenosti bakterijskih populacija, eukarioti i prokarioti su razvili inhibitore tog sustava nastojeći se obraniti. Najčešće su inhibitori različiti enzimi koji razgrađuju pojedine komponente QS sustava, a taj se fenomen naziva gašenjem QS sustava (engl. Quorum Quenching - QQ). Osim enzima inhibicijsku aktivnost imaju i neki prirodni produkti poput flavonoida koji su pokazali visoku aktivnost inhibicije u pokusima sazrijevanja biofilma *E. coli* i *P. aeruginosa*. Iz svega navedenog možemo zaključiti da bi QS inhibitori mogli biti korisni u terapiji bakterijskih infekcija. Prednost takvih lijekova bila bi u tome što bi se postiglo selektivno djelovanje na bakterije i posljedično manja toksičnost s obzirom da kod čovjeka

takav sustav ne postoji. Problem je što se pokazalo da bakterije razvijaju rezistenciju na QS inhibitore istim mehanizmima kao i na antibiotike te da inhibicija QS-a traje onoliko koliko i primjena inhibitora, s obzirom da padom njegove koncentracije može doći do ponovne uspostave QS (Kalenić i sur., 2019).

Nekoliko je mogućih načina kako spriječiti QS te na taj način onemogućiti produkciju/sazrijevanje biofilma i ostalih čimbenika virulencije te posljedično omogućiti bakteriostatsko/baktericidno djelovanje antibiotika i imunskog sustava domaćina:

- inaktivacijom receptora važnih u QS signalizaciji
- inhibicijom sinteze signalnih QS molekula
- enzimatskom degradacijom (razgradnjom) signalnih QS molekula
- upotrebom protutijela.

Među najvažnijim i farmakološki najviše istraživanim QS signalnim molekulama su N-acetilirani-homoserin lakton (AHL) koji produciraju gram-negativne bakterije, autoinducirajući peptid (AIP) koji produciraju gram-pozitivne bakterije i autoinduktor-2 (AI-2) prisutan i kod gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterije (Eickhoff i Bassler, 2018). Za sintezu AHL signalnih molekula u gram-negativnim bakterijama poput *P. aeruginosa* odgovorna je Lux-I AHL sintaza (Yang i sur., 2009), dok u regulaciji sinteze i sekrecije QS signalnih molekula u gram-pozitivnih bakterija poput *S. aureus* važnu ulogu ima pomoćni regulacijski gen (engl. accessory gene regulator – agr) (Murray i Williams, 2018). AI-2 možemo smatrati posrednicima između različitih vrsta bakterija, a za njegovu sintezu i sekreciju značajna je LuxS sintaza (Thompson i sur., 2015).

U nastavku ćemo objasniti najvažnije strategije korištene u razvoju potencijalnih novih „pomoćnika“ antibioticima, uz napomenu da su sva dosadašnja istraživanja provedena in vitro i na životinjskim modelima.

Inaktivacija receptora za QS signalne molekule može se postići na nekoliko načina: (1) Vezanjem molekule strukturno slične QS signalnim molekulama na vezno mjesto na receptoru može se spriječiti vezanje QS signalne molekule što će spriječiti aktivaciju receptora i posljedičnu ekspresiju određenih gena (Geske i sur., 2007); (2) Inhibicija receptorske aktivnosti može se postići i vezanjem neke molekule na alosteričko mjesto na receptoru (Paczkowski i sur., 2017); (3) isti se učinak može postići aktivacijom represorskih gena (Yang i sur., 2012). U tablici 8. prikazan je anti-QS agens, meta i učinak koji se postiže njegovim djelovanjem, iz studija na in vitro modelima inficiranim sojevima *P. aeruginosa* prema gore navedenim mehanizmima djelovanja.

Tablica 8. Prikaz djelovanja agenasa koji uzrokuju inaktivaciju receptora za QS signalne molekule (Paczkowski i sur., 2017; Yang i sur., 2012; Geske i sur., 2007)

| anti-QS agens | mehanizam | meta | učinak |
|--|-----------|---|--|
| m-bromo-tiolakton | (1) | receptori za AI (LasR, RhIR) | inhibirana produkcija biofilma i ostalih čimbenika virulencije |
| 4-bromofenil-propionil-homoserin lakton, 4-jodo-PHL, 3-nitro-PHL (analozi AHL) | (1) | Receptori TraR, LasR, LuxR | inhibirana produkcija čimbenika virulencije |
| flavonoidi | (2) | receptori za AI (LasR, RhIR) – alosteričko mjesto | promjena u transkripciji gena čija ekspresija ovisi o QS |
| N-dekanoil-L-homoserin benzilni ester | (3) | QS represor | inhibirana produkcija biofilma i ostalih čimbenika virulencije |

Na sojevima *P. aeruginosa* ispitivala se i učinkovitost sinefungina, butiril-SAM i S-adenozilhomocisteina kao potencijalnih inhibitora sinteze signalne AHL molekule. Djelovanjem navedenih lijekova pokazalo se da dolazi do smanjenja sekrecije čimbenika virulencije (Parsek i sur., 1999).

Signalni putevi za quorum sensing mogu se poremetiti i upotrebom enzima koji će razgraditi signalne molekule i na taj način onemogućiti prijenos signala i sve posljedice koje s njime dolaze. Enzimatska degradacija AHL molekula može biti katalizirana laktonazama, acilazama, reduktazama ili oksidazama (Rehman i Leiknes, 2018). Različite laktonaze iz porodice MBL enzima su se pokazale učinkovite u degradaciji AHL iz sojeva *P. aeruginosa* i *A. baumannii*, što je dovelo do povećane osjetljivosti sojeva na antibiotike (Guendouze i sur., 2017; Chow i sur., 2014) i govori u prilog ovim lijekovima kao pomoćnoj antibiotskoj terapiji. Acilaze su pokazale dobru učinkovitost i pri oblaganju medicinskih implantanata kako bi se spriječila kolonizacija bakterijskog biofilma, što je veoma značajno u profilaksi bakterijskih infekcija (Grover i sur., 2016). S obzirom da su enzimi po svojoj strukturi proteini, jedno od ograničenja njihove upotrebe svakako je njihova nestabilnost in vivo.

Nekoliko protutijela pokazalo je u prekliničkim studijama potencijal u inhibiciji QS signalizacije. Protutijelo RS2-1G9 veže se na 3-okso-dodekanoil-HSL signalnu molekulu *P. aeruginosa* i na taj način pojačava imunosni odgovor, a ujedno i štiti makrofage domaćina od citotoksičnog učinka bakterije (Kaufmann i sur., 2008). Na istu signalnu molekulu ima učinak i protutijelo XYD-11G2, međutim nešto drukčijim mehanizmom: u ovom slučaju protutijelo

potiče hidrolitičku razgradnju signalne molekule čime se suprimira signalizacija putem QS-a (Koul i sur., 2016). U in vitro uvjetima i na modelu miša dokazana je antimikrobna učinkovitost protutijela AP4-24H11 s djelovanjem na AIP-4 signalnu molekulu prisutnu u *S. aureus* (Park i sur., 2007).

Cilj je ovakvog pristupa inhibirati produkciju brojnih čimbenika virulencije bakterija koje imaju važnu ulogu u razvoju i progresiji rezistentnih sojeva, uključujući i nastanak biofilma koji bakterijama znatno smanjuje osjetljivost na antibiotike i dodatno otežava terapiju. Potencijal ovih molekula u liječenju infektivnih bolesti nije upitan što pokazuju i brojna do sad završena pretklinička istraživanja, međutim tek će kliničke studije koje uključuju ljude pokazati kakva je zaista učinkovitost i sigurnost. Ono na što ćemo se vrlo vjerojatno moći osloniti kombinacija je ovih lijekova s antibioticima.

4.7. Strategije u borbi protiv rezistencije

Ako krenemo od samog početka - dijagnostike bakterijskih infekcija, značajnu ulogu svakako ima brzina detektiranja uzročnika određene infekcije te pravilan odabir ciljanog antibiotika. Metode identifikacije i testiranja osjetljivosti koje se uglavnom koriste vrlo su spore. Primjenom molekularnih metoda poput PCR-a vrijeme detekcije može se skratiti s nekoliko dana na nekoliko sati. Zbog lošeg stanja pacijenta, često se u iščekivanju mikrobiološkog nalaza daju empirijski, širokospektralni antibiotici što doprinosi širenju AMR, a često je propisivanje antibiotika medicinski neutemeljeno.

Nadalje, važno je podići svijest pacijenata o štetnosti prekomjerne upotrebe antibiotika, kao i kontinuirano educirati medicinsko osoblje koje često podliježe pritisku pacijenata i nepotrebno propisuje antibiotik. Liječnici bi se tijekom cijelog života trebali informirati o prikladnosti propisivanja određenih antibiotika, prvenstveno prateći smjernice, naročito ako postoje smjernice na lokalnoj razini.

Primjenom mjera kojima bi se mogućnost infekcije i razvoja rezistencije smanjili na najmanju moguću razinu možemo značajno prevenirati širenje AMR. U tom vidu važna je edukacija zdravstvenog osoblja i pacijenata o korištenju antiseptičkih mjera i dekontaminacije osoblja, pacijenata i cjelokupne bolničke okoline, kao i važnosti higijene ruku i korištenja osobne zaštitne opreme.

Koliko je ovo veliki problem u čitavom svijetu, tako je i u RH, stoga je Ministarstvo zdravstva 2017. pokrenulo Nacionalni program za kontrolu otpornosti bakterija na antibiotike

u kojem su utvrđeni ciljevi i planirane aktivnosti koje prate globalni akcijski plan Svjetske zdravstvene organizacije i ECDC-a, od kojih su najvažniji: praćenje potrošnje antimikrobnih lijekova, podizanje svjesnosti o štetnosti prekomjerne uporabe antibiotika kod onih koji antibiotike propisuju, izdaju i konzumiraju; spriječiti pojavu i kontrolirati širenje infekcije; optimizirati primjenu antimikrobnih lijekova u humanoj i veterinarskoj medicini. U kratkim crtama navest ćemo aktivnosti na koje je stavljen poseban fokus prema Programu:

- razvijanje nacionalnih smjernica za racionalno izdavanje antibiotika
- unaprjeđenje edukacije o primjeni antibiotika u školama i na fakultetima povezanih sa strukom, ali i kasnije (stručni i znanstveni skupovi, tečajevi usavršavanja)
- razvijanje programa rukovođenja antimikrobnom terapijom i uspostava stručnih timova za rukovođenje antimikrobnom terapijom (*engl. antibiotic stewardship program*) – tim infektologa, kliničkih mikrobiologa i kliničkih farmaceuta u svakoj bolnici
- kontinuirano praćenje rezistencije na antibiotike i potrošnje antibiotika
- smanjenje incidencije infekcija (nadzor provedbe sanitarno-higijenskih i preventivnih mjera)
- poticanje investiranja u razvoj novih lijekova i dijagnostičkih sredstava, podupiranje znanstvenih istraživanja na području rezistencije
- podizanje svjesnosti o štetnosti prekomjerne uporabe antimikrobnih lijekova – 18. studeni – Europski dan svjesnosti o antibioticima (zdravstvo.gov.hr)

4.8. Uloga ljekarnika

Kao i ostali zdravstveni djelatnici, tako bi i ljekarnici trebali biti uključeni u rješavanje problema antimikrobne rezistencije, naročito zbog svog znanja o lijekovima. Među svim zdravstvenim osobljem, ljekarnici su najdostupniji i u najčešćem kontaktu s pacijentima.

Važna je uloga ljekarnika kao savjetnika. Kroz razgovor s pacijentom ljekarnik se može pobrinuti da je pacijent shvatio sve upute o primjeni i mogućim nuspojavama lijeka, s naglaskom na važnosti potrebe da se antibiotik popije do kraja. Ljekarnik također može savjetovati pacijenta o samoliječenju ukoliko je riječ o nebakterijskoj infekciji kod koje se često nepotrebno poseže za antibiotikom.

Osim savjetodavne uloge, ljekarnik mora imati i ulogu u promicanju zdravlja, pa tako može potaknuti pacijenta primjerice na cijepljenje protiv virusnih bolesti kao dokazano učinkovitu metodu u smanjenju incidencije popratnih bakterijskih infekcija.

5. Zaključci

- ESKAPE patogeni predstavljaju smrtonosne bakterije čija višestruka rezistencija na antibiotike jako brzo napreduje. Da bismo to spriječili, ili barem usporili, moramo udružiti snage u nekoliko područja – od medicine do ekonomije i politike.
- Među najvažnijim razlozima nastanka rezistencije iracionalna je upotreba antibiotika, a posljedica toga je sve manji broj dostupnih učinkovitih antibiotika, odnosno smanjena učinkovitost antibiotika koja ugrožava ishod liječenja zaraznih bolesti. Stanje je dodatno otežano zbog intrinzične i stečene rezistencije mnogih sojeva, ali i neadekvatne prevencije i nadzora infekcije što omogućuje lako širenje nastalih rezistentnih sojeva, naročito u sredinama povezanim sa zdravstvenom skrbi gdje je prodor bakterija u primarno sterilne prostore ljudskog tijela znatno olakšan tijekom invazivnih dijagnostičkih ili terapijskih postupaka.
- Iako se rezistencija na antibiotike smatra globalnim problemom, postoje neke razlike u geografskim područjima, stoga je praćenje rezistencije u vlastitoj sredini od iznimne važnosti u kontroli racionalne upotrebe antibiotika, kao i mogućnosti pružanja kvalitetne medicinske skrbi kako u zajednici, tako i u bolničkom okruženju.
- Velika prijetnja zdravstvenom sustavu sve je značajniji porast tzv. intrahospitalnih infekcija, koje osim što često imaju nepovoljne ishode za pacijenta, znatno povećavaju financijske troškove (dulja upotreba lijekova i dulja hospitalizacija akumuliraju dodatne troškove).
- Unatoč tome što se rezistencija na antibiotike razvija jako brzo, razvoj novih lijekova baš i ne prati rastuće trendove. Razvoj novog lijeka je skup, a razvoj lijeka koji neće biti financijski isplativ još i skuplji, stoga farmaceutska industrija zazire od ulaganja u ovo područje. Većina novih antibiotika slijedi već poznate mehanizme djelovanja, stoga nam ne preostaje drugo nego se okrenuti nekim alternativnim mogućnostima, bilo u vidu monoterapije ili kao pomoćne terapije već dostupnim antibioticima.

- Možda najizglednije skora je upotreba bakteriofaga i biološke terapije (monoklonska protutijela), međutim da bi se to moglo ostvariti mora se provesti značajno veći broj studija koje će potvrditi učinkovitost i sigurnost novih opcija.
- Kako bismo si osigurali dovoljno vremena za istraživanja i razvoj potencijalnih novih lijekova, moramo različitim mjerama prevencije i nadzora infekcija barem usporiti brzi razvoj AMR, što i je prioritet nacionalnih vlada i svjetskih organizacija.

6. Popis kratica, oznaka i simbola

ABC – ATP-binding-cassette

Ag - antigen

AgNP – nanočestice srebra (engl. silver nanoparticles)

AHL – N-acetilirani-homoserin lakton (engl. N-acyl-homoserine lactone)

AI – autoinduktor (engl. autoinductor)

AIP – autoinducirajući peptid (engl. auto-inducing peptide)

AMC – amoksicilin + klavulanska kiselina

AME – aminoglikozid-modificirajući enzim (engl. aminoglycoside-modifying enzyme)

AMP - ampicilin

AMR – antimikrobna rezistencija (engl. antimicrobial resistance)

AMZH – Akademija medicinskih znanosti Hrvatske

AN - amikacin

ARB – engl. antibiotic resistance breakers

ARG – geni nositelji rezistencije (engl. antibiotic resistance genes)

C/T – ceftolozan + tazbaktam

CA-MRSA – MRSA stečena u zajednici (engl. community-acquired MRSA)

CAZ – ceftazidim

CC - klindamicin

CDC – Centri za kontrolu i prevenciju bolesti (engl. Centers for Disease Control and Prevention)

CFEP - cefipim

CFM – cefiksim

CIP - ciprofloksacin

CN – cefaleksin

COL - kolistin

CPT - ceftarolin

CRAB – karbapenem-rezistentni *A. baumannii* (engl. carbapenem-resistant *A. baumannii*)

CRE – karbapenem-rezistentni Enterobacterales (engl. carbapenem-resistant Enterobacterales)

CRISPR – engl. clustered regularly interspaced short palindromic repeats

CRO - ceftriakson

CRPA - karbapenem-rezistentni *P. aeruginosa* (engl. carbapenem-resistant *P. aeruginosa*)

CXM – cefuroksim

CZA – ceftazidim + avibaktam

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (engl. deoxyribonucleic acid)

E - eritromicin

EARSS – engl. European Antimicrobial Resistance Surveillance System

ECDC – Europski centar za prevenciju i kontrolu bolesti (engl. European Centre for Disease Prevention and Control)

EMA – Europska agencija za lijekove (engl. European Medicines Agency)

ERT - ertapenem

ESBL – β -laktamaze proširenog spektra (engl. extended spectrum beta-lactamase)

EUCAST - Europsko povjerenstvo za testiranje osjetljivosti na antimikrobne lijekove (engl. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)

FDA – Agencija za hranu i lijekove (engl. Food And Drug Agency)

FOX - cefoksitin

GIT – gastro-intestinalni trakt

GM - gentamicin

HA-MRSA – MRSA stečena u bolničkoj skrbi (engl. hospital-acquired MRSA)

HDP – peptidi za obranu domaćina (engl. host defense peptides)

IMP - imipenem

ISKRA - Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike

JIL – jedinica intenzivnog liječenja

LptD – LPS transportni protein D (engl. LPS transport protein D)

LZD - linezolid

mAb – monoklonsko protutijelo (engl. monoclonal antibody)

MATE – engl. multidrug and toxic compound extrusion

MBL – metalo- β -laktamaze (engl. metallo- β -lactamase)

MDR – višestrukorezistentan (engl. multi-drug resistant)

MER - meropenem

MFS – engl. major facilitator superfamily

MIK – minimalna inhibitorna koncentracija

MOX - moksifloksacin

MRSA – meticilin-rezistentni *S. aureus* (engl. methicillin-resistant *S. aureus*)

MUP - mupirocin

NOR - norfloksacin

PACE – engl. proteobacterial antimicrobial compound efflux

PBP – protein za vezanje penicilina (engl. penicillin binding proteins)

PMDA – Agencija za lijekove i medicinske uređaje (engl. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)

PMQR – rezistencija na kinolone posredovana plazmidom (engl. plasmid-mediated quinolone resistance)

PTZ – piperacilin + tazobaktam

QQ – utišavanje kvoruma (engl. quorum quenching)

QS – detekcija kvoruma (engl. quorum sensing)

RC ATB - Referentni centar za praćenje rezistencije na antibiotike

RH – Republika Hrvatska

RIF - rifampicin

RND – engl. resistance-nodulation-division

rRNA – ribosomska RNA (engl. ribosomal RNA)

SAM – ampicilin + sulbaktam

SMR – engl. small multidrug resistance

SXT – sulfametoksazol + trimetoprim (ko-trimoksazol)

TE – tetraciklin

TGC - tigeciklin

TPFI-2 – engl. host-tissue factor pathway inhibitor – 2

VA - vankomicin

VRE – vankomicin-rezistentni *E. faecalis* (engl. vankomycin-resistant *E. faecalis*)

VREfm - vankomicin-rezistentni *E. faecium* (engl. vankomycin-resistant *E. faecium*)

VRSA - vankomicin-rezistentni *S. aureus* (engl. vankomycin-resistant *S. aureus*)

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. World Health Organization)

7. Literatura

A Phase 2 IV Gallium Study for Patients With Cystic Fibrosis (IGNITE Study), last update 2019, <https://classic.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02354859>, pristupljeno 1. kolovoza 2023

Abebe A, Hailemariam T. Synthesis and Assessment of Antibacterial Activities of Ruthenium(III) Mixed Ligand Complexes Containing 1,10-Phenanthroline and Guanide. *Bioinorg Chem Appl*, 2016, 2016, 1–9

Abedon ST. Active bacteriophage biocontrol and therapy on sub-millimeter scales towards removal of unwanted bacteria from foods and microbiomes. *AIMS Microbiol*, 2017, 3(3):649-688

Abram M, Škrobonja I, Ambrožić D, Repac Antić D i Bubonja Šonje M. ESKAPE – bakterije koje su uzburile svijet. *Medicina Fluminensis: Medicina Fluminensis*, 2018, 54. (3), 242-253

Ainsworth S, Ketter PM, Yu JJ, Grimm RC, May HC, Cap AP, Chambers JP, Guentzel MN, Arulanandam BP. Vaccination with a live attenuated *Acinetobacter baumannii* deficient in thioredoxin provides protection against systemic *Acinetobacter* infection. *Vaccine*, 2017, 35:3387–3394

Alexander E, Goldberg L, Das AF, Moran GJ, Sandrock C, Gasink LB, Spera P, Sweeney C, Paukner S, Wicha WW, Gelone SP, Schranz J. Oral lefamulin vs moxifloxacin for early clinical response among adults with community-acquired bacterial pneumonia: the LEAP 2 randomized clinical trial. *JAMA*, 2019, 322:1661–1671

Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023 - 2021 data. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control and World Health Organization; 2023

Antonelli G, Cappelli L, Cinelli P, Cuffaro R, Manca B, Nicchi S, Tondi S, Vezzani G, Viviani V, Delany I, et al. Strategies to tackle antimicrobial resistance: The example of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Mol Sci*, 2021, 22, 4943

Arias CA, Murray BE. The rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10:266 –278.

Arthur M, Reynolds P, Courvalin P. Glycopeptide resistance in enterococci. *Trends Microbiol*, 1996, 4:401–407

Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, Nisar MA, Alvi RF, Aslam MA, Qamar MU et al. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect Drug Resist*, 2018, 11:1645 – 1658

Barrangou R. CRISPR-Cas systems and RNA-guided interference. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2013, 4(3):267-278

- Beauduy CE, Winston LG. Kemoterapijski lijekovi. U: Temeljna i klinička farmakologija. Zagreb, *Medicinska naklada*, 2020, str. 793-852
- Bedenić B, Sardelić S, Vranić-Ladavac M, Barišić N, Ladavac R. Karbapenemaze gram-negativnih bakterija. *Liječ Vjesn*, 2014, 136:94-103
- Biendo M, Canarelli B, Thomas D, Rousseau F, Hamdad F, Adjide C, Laurans G, Eb F. Successive emergence of extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing *Enterobacter aerogenes* isolates in a university hospital. *J Clin Microbiol*, 2008, 46: 1037–1044
- Bikard D, Marraffini LA. Innate and adaptive immunity in bacteria: mechanisms of programmed genetic variation to fight bacteriophages. *Curr Opin Immunol*, 2012, 24(1):15-20
- Bonchi C, Imperi F, Minandri F, Visca P, Frangipani E. Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy. *BioFactors*, 2014, 40, 303–312
- Bondy-Denomy J, Pawluk A, Maxwell KL, Davidson AR. Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. *Nature*, 2013, 493(7432):429-432
- Bonomo RA. Cefiderocol: a novel siderophore cephalosporin defeating carbapenem-resistant pathogens. *Clin Infect Dis*, 2019, 69:S519–S520
- Botelho J, Grosso F, Peixo L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* – mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat*, 2019, 44:100640
- Brackman G, Coenye T. Inhibition of quorum sensing in *Staphylococcus* spp. *Curr Pharm Des*, 2015, 21(16):2101–2108
- Brauner A, Fridman O, Gefen O, Balaban NQ. Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 320 – 330
- Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve It. *Molecules*, 2020, 16;25(6):1340
- Bressow H. Bacteriophage–host interaction: from splendid isolation into a messy reality. *Curr Opin Microbiol*, 2013,16(4):500-06
- Cetinkaya Y, Falk P, Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol Rev*, 2000, 13:686-707
- Casadevall A, Dadachova E, Pirofski LA. Passive antibody therapy for infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2, 695–703
- Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol*, 2009, 7: 629 – 641
- Chang S, Sievert DM, Hageman JC, Boulton ML, Tenover FC, Downes FP, Shah S, Rudrik JT, Pupp GR, Brown WJ et al. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. *N Engl J Med* 2003; 348:1342 – 1347

Chibebe Junior J, Fuchs BB, Sabino CP, Junqueira JC, Jorge AOC, Ribeiro MS, et al. Photodynamic and antibiotic therapy impair the pathogenesis of *Enterococcus faecium* in a whole animal insect model. *PLoS ONE*, 2013, 8:e55926

Christiansen SH, Murphy RA, Juul-Madsen K, Fredborg M, Hvam ML, Axelgaard E, Skovdal SM, Meyer RL, Sorensen U, Moller A, Nyengaard JR, Norskov-Lauritsen N, Wang M, Gadjeva M, Howard KA, Davies JC, Petersen E, Vorup-Jensen T. The immunomodulatory drug glatiramer acetate is also an effective antimicrobial agent that kills Gram negative bacteria. *Sci Rep*, 2017, 7:15653

Chow JY, Yang Y, Tay SB, Chua KL, Yew WS. Disruption of biofilm formation by the human pathogen *Acinetobacter baumannii* using engineered quorum-quenching lactonases. *Antimicrob Agents Chemother*, 2014, 58(3):1802-1805

Chung PY. The emerging problems of *Klebsiella pneumoniae* infections: carbapenem resistance and biofilm formation. *FEMS Microbiol Lett*, 2016, 363(20):fnw219

Cieplik, F., Deng, D., Crielaard, W., Buchalla, W., Hellwig, E., Al-Ahmad, A., et al. Antimicrobial photodynamic therapy – what we know and what we don't. *Crit Rev Microbiol*, 2018, 44, 571–589

Corbett D, Wise A, Langley T, Skinner K, Trimby E, Birchall S, Doralı A, Sandiford S, Williams J, Warn P, Vaara M, Lister T. Potentiation of antibiotic activity by a novel cationic peptide: potency and spectrum of activity of SPR741. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61:e00200-17

Creech CB, Frenck RW, Sheldon EA, Seiden DJ, Kankam MK, Zito ET, Girgenti D, Severs JM, Immermann FW, McNeil LK, Cooper D, Jansen KU, Gruber W, Eiden J, Anderson AS, Baber J. Safety, tolerability, and immunogenicity of a single dose 4-antigen or 3-antigen *Staphylococcus aureus* vaccine in healthy older adults: results of a randomised trial. *Vaccine*, 2017, 35:385–394

Dakal, T. C., Kumar, A., Majumdar, R. S., and Yadav, V. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Front Microbiol*, 2016, 7:1831

Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clin Microbiol Rev*, 2014, 27(4):665-690

Davin-Regli A, Pagès JM. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Front Microbiol*, 2015, 6:392

D'Costa VM, King CE, Kalan L, et al. Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 2011, 477(7365):457-461

de Aguiar Coletti TMSF, de Freitas LM, Almeida AMF, and Fontana CR. Optimization of antimicrobial photodynamic therapy in biofilms by inhibiting efflux pump. *Photomed Laser Surg*, 2017, 35, 378–385

- De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 2020, 33(3):e00181-19
- De Vlieger D, Ballegeer M, Rossey I, Schepens B, Saelens X. Single-Domain Antibodies and Their Formatting to Combat Viral Infections. *Antibodies*, 2019, 8, 1
- Dhanda G, Acharya Y, Haldar J. Antibiotic Adjuvants: A Versatile Approach to Combat Antibiotic Resistance. *ACS Omega*, 2023, 14;8(12):10757-10783
- DiGiandomenico A, Warrener P, Hamilton M, Guillard S, Ravn P, Minter R, Camara MM, Venkatraman V, MacGill RS, Lin J, Wang Q, Keller AE, Bonnell JC, Tomich M, Jermutus L, McCarthy MP, Melnick DA, Suzich JA, Stover CK. Identification of broadly protective human antibodies to *Pseudomonas aeruginosa* exopolysaccharide Psl by phenotypic screening. *J Exp Med*, 2012, 209:1273–1287
- Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8(9):881-90
- Dougherty JA, Sucher AJ, Chahine EB, Shihadeh KC. Omadacycline: a new tetracycline antibiotic. *Ann Pharmacother*, 2019, 53:486–500
- Drawz SM, Papp-Wallace KM, Bonomo RA. New β -Lactamase Inhibitors: A therapeutic Renaissance in an MDR World. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 58, 1835–1846
- Durán N, Durán M, de Jesus MB, Seabra AB, Fávaro WJ, Nakazato G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine*, 2016, 12(3):789-799
- Eickhof MJ, Bassler BL. SnapShot: bacterial quorum sensing. *Cell*, 2018, vol. 174, no. 5, p. 1328.e1321
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2021. Stockholm: ECDC, 2022
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2021. Stockholm: ECDC, 2023
- EVADE Effort to Prevent Nosocomial Pneumonia caused by *Pseudomonas aeruginosa* in Mechanically ventilated Subjects – faza II MEDI3902, 2016, <https://www.combacte.com/trials/evade/>, pristupljeno 31. srpnja 2023.
- Fecroja (cefiderocol) – pregled informacija o lijeku, 2020, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/fecroja>, pristupljeno 21. srpnja 2023.
- Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 2009, 155(Pt 6):1749-1757
- François B, Luyt CE, Dugard A, Wolff M, Diehl JL, Jaber S, Forel JM, Garot D, Kipnis E, Mebazaa A et al. Safety and pharmacokinetics of an anti-PcrV PEGylated monoclonal antibody fragment in mechanically ventilated patients colonized with *Pseudomonas aeruginosa*: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Crit Care Med*, 2012, 40, 2320–2326

- Frank DW, Vallis A, Wiener-Kronish JP, Roy-Burman A, Spack EG, Mullaney BP, Megdoud M, Marks JD, Fritz R, Sawa T. Generation and characterization of a protective monoclonal antibody to *Pseudomonas aeruginosa*. *PcrV J Infect Dis*, 2002, 186, 64–73
- Furuie H, Tanioka S, Shimizu K, Manita S, Nishimura M, Yoshida H. Intrapulmonary pharmacokinetics of lascufloxacin in healthy adult volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62:e02169-17
- García-Quintanilla M, Pulido MR, Carretero-Ledesma M, McConnell MJ. Vaccines for Antibiotic-Resistant Bacteria: Possibility or Pipe Dream? *Trends Pharmacol Sci*, 2016, 37, 143–152
- Goldstein EJC, Citron DM, Tyrrell KL, Merriam CV. In Vitro Activity of Biapenem plus RPX7009, a Carbapenem Combined with a Serine β -Lactamase Inhibitor, against Anaerobic Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2013, 57, 2620–2630
- Gonzales-Bello C. Antibiotic adjuvants – A strategy to unlock bacterial resistance to antibiotics. *Nature*, 2000, 406, 775-781
- Grover N, Plaks JG, Summers SR, Chado GR, Schurr MJ, Kaar JL. Acylase-containing polyurethane coatings with anti-biofilm activity. *Biotechnol Bioeng*, 2016, 113(12):2535-2543
- Guendouze A, Plener L, Bzdrenga J, Jacquet P, Rémy B, Elias M, Lavigne JP, Daudé D, Chabrière E. Effect of Quorum Quenching Lactonase in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and Comparison with Quorum Sensing Inhibitors. *Front Microbiol*, 2017, 14;8:227
- Guérin F, Isnard C, Cattoir V, Giard JC. Complex Regulation Pathways of AmpC-Mediated β -Lactam Resistance in *Enterobacter cloacae* Complex. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59:7753-61
- Halstead FD, Thwaite JE, Burt R, Laws TR, Raguse M, Moeller R, et al. Antibacterial activity of blue light against nosocomial wound pathogens growing planktonically and as mature biofilms. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 82, 4006–4016
- Harbarth S, Cosgrove S, Carmeli Y. Effects of antibiotics on nosocomial epidemiology of vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob Agents Chemother*, 2002, 46:1619-28
- Harkins CP, Pichon B, Doumith M, Parkhill J, Westh H, Tomasz A et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biol*, 2017, 130
- Healthcare Associated Infections, last reviewed 2021, <https://www.cdc.gov/hai/index.html>, pristupljeno 25. srpnja 2023.
- Hecker SJ, Reddy KR, Totrov M, Hirst GC, Lomovskaya O, Griffith DC, King P, Tsivkovski R, Sun N, Sabet M, et al. Discovery of a Cyclic Boronic Acid β -Lactamase Inhibitor

- (RPX7009) with Utility vs Class A Serine Carbapenemases. *J Med Chem*, 2015, 58, 3682–3692
- Henrique IM, Sacerdoti F, Ferreira RL, Henrique C, Amaral MM, Piazza RMF, Luz D. Therapeutic Antibodies Against Shiga Toxins: Trends and Perspectives. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12, 825856
- Hoggarth A, Weaver A, Pu QQ, Huang T, Schettler J, Chen F, Yuan XF, Wu M. Mechanistic research holds promise for bacterial vaccines and phage therapies for *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13:909–924
- Hooper DC. Emerging mechanisms of fluoroquinolone resistance. *Emerg Infect Dis*, 2001, 7:337–341
- Hou AW, Morrill AM. Obiltoximab: adding to the treatment arsenal for *Bacillus anthracis* infection. *Ann Pharmacother*, 2017, 51:908–913
- Hu X, Huang YY, Wan Y, Wang X, and Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic therapy to control clinically relevant biofilm infections. *Front Microbiol*, 2018, 9, 1–24
- Huang Y, Wang W, Zhang Z, et al. Phage Products for Fighting Antimicrobial Resistance. *Microorganisms*, 2022, 10(7):1324
- Ito T, Kuwahara-Arai K, Katayama Y, Uehara Y, Han X, Kondo Y et al. Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec) analysis of MRSA. *Methods Mol Biol*, 2014, 1085:131-48
- Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*, 2009, 22(1):161-82
- Kalenić S. i suradnici. Medicinska mikrobiologija. Zagreb, *Medicinska naklada*, 2019, str. 72-74, 76-78, 111-131, 134-141, 161-163, 213-214, 219-221, 241-246, 249-251
- Karami N, Martner A, Enne VI, Swerkersson S, Adlerberth I, Wold AE. Transfer of an ampicillin resistance gene between two *Escherichia coli* strains in the bowel microbiota of an infant treated with antibiotics. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60, 1142–1145
- Kareem A. Combination Effect of Edible Mushroom – Silver Nanoparticles and Antibiotics against selected Multidrug Biofilm Pathogens. *Int J Res Pharm Sci*, 2018, 9
- Katayama B, Ozawa T, Morimoto K, Awazu K, Ito N, Honda N, et al. Enhanced sterilization and healing of cutaneous *pseudomonas* infection using 5-aminolevulinic acid as a photosensitizer with 410-nm LED light. *J Dermatol Sci*, 2018, 90, 323–331
- Kaufmann GF, Park J, Mee JM, Ulevitch RJ, Janda KD. The quorum quenching antibody RS2-1G9 protects macrophages from the cytotoxic effects of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing signalling molecule N-3-oxo-dodecanoyl-homoserine lactone. *Mol Immunol*, 2008, 45(9):2710-2714
- Kim W, Zhu WP, Hendricks GL, Van Tyne D, Steele AD, Keohane CE, Fricke N, Conery AL, Shen S, Pan W, Lee K, Rajamuthiah R, Fuchs BB, Vlahovska PM, Wuest WM, Gilmore

- MS, Gao HJ, Ausubel FM, Mylonakis E. A new class of synthetic retinoid antibiotics effective against bacterial persisters. *Nature*, 2018, 556:103–107
- Koul S, Prakash J, Mishra A, Kalia VC. Potential Emergence of Multi-quorum Sensing Inhibitor Resistant (MQSIR) Bacteria. *Indian J Microbiol*, 2016, 56(1):1-18
- Kufel WD, Devanathan AS, Marx AH, Weber DJ, Daniels LM. Bezlotoxumab: a novel agent for the prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Pharmacotherapy*, 2017, 37:1298–1308
- Kwong JC, Maaten S, Upshur RF, Patrick DM, Marra F. The effect of universal influenza immunization on antibiotic prescriptions: an ecological study. *Clin Infect Dis*, 2009, 49:750-6
- Lagacé-Wiens P, Walkty A, Karlowsky J. Ceftazidime–avibactam: An evidence-based review of its pharmacology and potential use in the treatment of Gram-negative bacterial infections. *Core Evid*, 2014, 9,13–25
- Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. *Clin Microbiol Rev*, 2018, 31:e00020-18
- Lanza VF, Tedim AP, Martinez JL, Baquero F, Coque TM. The Plasmidome of Firmicutes: Impact on the Emergence and the Spread of Resistance to Antimicrobials. *Microbiol Spectr*, 2015, 3, PLAS-0039-2014
- Lazar H, Horn MP, Zuercher AW, Imboden MA, Durrer P, Seiberling M, Pokorny R, Hammer C, Lang AB. Pharmacokinetics and safety profile of the human anti-*Pseudomonas aeruginosa* serotype O11 immunoglobulin M monoclonal antibody KBPA-101 in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53, 3442–3446
- Leonard DA, Bonomo RA, Powers RA. Class D β -Lactamases: A Reappraisal after Five Decades. *Accounts Chem Res*, 2013, 46, 2407–2415
- Leone M, Bouadma L, Bouhemad B, Brissaud O, Dauter S, Gibot S, Hraiech S, Jung B, Kipnis E, Launey Y, Luyt CE, Margetis D, Michel F, Mokart D, Montravers P, Monsel A, Nseir S, Pugin J, Roquilly A, Velly L, Zahar JR, Bruyère R, Chanques G. Hospital-acquired pneumonia in ICU. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 2018, 37(1):83-98
- Leone S, Damiani G, Pezone I, Kelly ME, Cascella M, Alfieri A, Pace MC, Fiore M. New antimicrobial options for the management of complicated intra-abdominal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38, 819–827
- Li XZ, Plesiat P, Nikaido H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev*, 2015, 28:337–418
- Likus W, Bajor G, Siemianowicz K. Nanosilver-does it have only one face? *Acta Biochem Pol*, 2013, 60(4):495–501
- Lu Q, Rouby JJ, Laterre PF, Eggimann P, Dugard A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Mercier E, Garbino J, Luyt CE, Chastre J et al. Pharmacokinetics and safety of panobacumab: Specific

adjunctive immunotherapy in critical patients with nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* O11 pneumonia. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66, 1110–1116

Ly-Chatain MH. The factors affecting effectiveness of treatment in phages therapy. *Front Microbiol*, 2014, 18;5:51

Magana M, Pushpanathan M, Santos AL, et al. The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *Lancet Infect Dis*, 2020, 20(9):e216–e230

Mai B, Gao Y, Li M, Wang X, Zhang K, Liu Q, et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy for *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant bacterial burn infection in vitro and in vivo. *Int J Nanomed*, 2017, 12, 5915–5931

Martin-Loeches I, Dale GE, Torres A. Murepavadin: a new antibiotic class in the pipeline. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2018, 16:259–268

Masi M, Réfregiers M, Pos KM, Pagès JM. Mechanisms of envelope permeability and antibiotic influx and efflux in Gram-negative bacteria. *Nat Microbiol*, 2017, 2:17001

McConnell MJ. Where are we with monoclonal antibodies for multidrug-resistant infections? *Drug Discov Today*, 2019, 24:1132–1138

Merrick B, Sergaki C, Edwards L, et al. Modulation of the Gut Microbiota to Control Antimicrobial Resistance (AMR) - A Narrative Review with a Focus on Faecal Microbiota Transplantation (FMT). *Infect Dis Rep*, 2023, 15(3):238-254

Mohanty S, Mishra S, Jena P, Jacob B, Sarkar B, and Sonawane A. An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine*, 2012, 8, 916–924

Moehler JS, Sim W, Blaskovich MAT, Cooper MA, and Ziora ZM. Silver bullets: a new lustre on an old antimicrobial agent. *Biotechnol Adv*, 2018, 36, 1391–1411

Motley MP, Banerjee K, Fries BC. Monoclonal antibody-based therapies for bacterial infections. *Curr Opin Infect Dis*, 2019, 32, 210–216

Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS and Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Front Microbiol*, 2019, 10:539

Mullish BH, Quraishi MN, Segal JP, McCune VL, Baxter M, Marsden GL, Moore D, Colville A, Bhala N, Iqbal TH et al. The use of faecal microbiota transplant as treatment for recurrent or refractory *Clostridium difficile* infection and other potential indications: Joint British Society of Gastroenterology (BSG) and Healthcare Infection Society (HIS) guidelines. *J Hosp Infect*, 2018, 100 (Suppl.1), S1–S31

Murray EJ, Williams P. Detection of Agr-Type Autoinducing Peptides Produced by *Staphylococcus aureus*. *Methods Mol Biol*, 2018, 1673:89-96

- Nacionalni program za kontrolu otpornosti bakterija na antibiotike, <https://zdravstvo.gov.hr/programi-i-projekti/nacionalni-programi-projekti-i-strategije/ostali-programi/nacionalni-program-za-kontrolu-otpornosti-bakterija-na-antibiotike-2017-2021/2198>, pristupljeno 28. srpnja 2023
- Nealson KH, Hastings JW. Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. *Microbiol Rev*, 1979, 43(4):496-518
- Nour El Din S, El-Tayeb TA, Abou-Aisha K, El-Azizi M. In vitro and in vivo antimicrobial activity of combined therapy of silver nanoparticles and visible blue light against *Pseudomonas aeruginosa*. *Int J Nanomed*, 2016, 11, 1749–1758
- Nuzyra: Withdrawal of the marketing authorisation application, 2018, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/withdrawn-applications/nuzyra>, pristupljeno 17. srpnja 2023
- O'Neill J. Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations, 2014, https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf, pristupljeno 25. srpnja 2023
- Pai J, Sutherland J, Maynard J. Progress Towards Recombinant Anti-Infective Antibodies. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov*, 2009, 4, 1–17
- Pages JM, James CE, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 6:893–903
- Papareddy P, Kalle M, Sorensen OE, Malmsten M, Morgelin M, Schmidtchen A. The TFPI-2 derived peptide EDC34 improves outcome of gram-negative sepsis. *PLoS Pathog*, 2013, 9 (12), e1003803
- Park J, Jagasia R, Kaufmann GF, Mathison JC, Ruiz DI, Moss JA, Meijler MM, Ulevitch RJ, Janda KD. Infection control by antibody disruption of bacterial quorum sensing signaling. *Chem Biol*, 2007, 14(10):1119-27
- Percival SL, Suleman L, Vuotto C, Donelli G. Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control. *J Med Microbiol*, 2015, 64:323–334
- Perry JA, Koteva K, Verschoor CP, Wang WL, Bowdish DME, Wright GD. A macrophage-stimulating compound from a screen of microbial natural products. *J Antibiot*, 2015, 68 (1), 40–46
- Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect*, 2006, 12:826–836
- Recarbrio (imipenem/cilastatin/relebaktam) – pregled informacija o lijeku, 2020., https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/recarbrio-epar-medicine-overview_hr.pdf, pristupljeno 20. srpnja 2023
- Recarbrio dosing administration, 2022., <https://www.merckconnect.com/recarbrio/dosing-administration/>, pristupljeno 20. srpnja 2023

Rehman ZU, Leiknes T. Quorum-quenching bacteria isolated from Red Sea sediments reduce biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*, 2018, 9:1354

Rineh A, Bremner JB, Hamblin MR, Ball AR, Tegos GP, and KelsO MJ. Attaching NorA efflux pump inhibitors to methylene blue enhances antimicrobial photodynamic inactivation of *Escherichia coli* and *Acinetobacter baumannii* in vitro and in vivo. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28, 2736–2740

Rineh A, Dolla NK, Ball AR, Magana M, Bremner JB, Hamblin MR, et al. Attaching the NorA efflux pump inhibitor INF55 to methylene blue enhances antimicrobial photodynamic inactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in vitro and in vivo. *ACS Infect Dis*, 2017, 3, 756–766

Samson JE, Magadán AH, Sabri M, Moineau S. Revenge of the phages: defeating bacterial defences. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(10):675-687

Sato T, Yamawaki K. Cefderocol: discovery, chemistry, and in vivo profiles of a novel siderophore cephalosporin. *Clin Infect Dis*, 2019, 69(Suppl 7):S538–43

Seeberger PH, Pereira CL, Khan N, Xiao GZ, Diago-Navarro E, Reppe K, Opitz B, Fries BC, Witzenrath M. A semi-synthetic glycoconjugate vaccine candidate for carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 56:13973–13978

Smitten KL, Southam HM, De La Serna JB, Gill MR, Jarman P, Smythe C, Poole RK, Thomas JA. Using Nanoscopy To Probe the Biological Activity of Antimicrobial Leads That Display Potent Activity against Pathogenic, Multidrug Resistant, Gram-Negative Bacteria. *ACS Nano*, 2019, 13, 5133–5146

Snydman DR, McDermott LA, Jacobus NV, Kerstein K, Grossman TH, Sutcliffe JA. Evaluation of the in vitro activity of eravacycline against a broad spectrum of recent clinical anaerobic isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62:e02206-17

Solomkin JS, Gardovskis J, Lawrence K, Montravers P, Sway A, Evans D, Tsai L. IGNITE4: results of a phase 3, randomized, multicenter, prospective trial of eravacycline vs. meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections. *Clin Infect Dis*, 2019, 69:921–929

Stotani S, Gatta V, Medda F, Padmanaban M, Karawajczyk A, Tammela P, Giordanetto F, Tzalis D, Collina S. A Versatile Strategy for the Synthesis of 4,5-Dihydroxy-2,3-Pentanedione (DPD) and Related Compounds as Potential Modulators of Bacterial Quorum Sensing. *Molecules*, 2018, 23, 2545

Sully E, Malachowa N, Elmore B, Alexander S, Femling J, Gray B, DeLeo F, Otto M, Cheung A, Edwards B, Sklar L, Horswill A, Hall P, Gresham H. Selective chemical inhibition of agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* promotes host defense with minimal impact on resistance. *PLoS Pathog*, 2014, 10(6):e1004174

Qin S, Wang Y, Zhang Q, Chen X, Shen Z, Deng F, Wu C, Shen J. Identification of a novel genomic island conferring resistance to multiple aminoglycoside antibiotics in *Campylobacter coli*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012; 56: 5332 – 5339

- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis*, 2006, 6:629–640
- Ruiz J. Transferable mechanisms of quinolone resistance from 1998 onward. *Clin Microbiol Rev*, 2019, 32:e00007-19
- Tambić Andrašević A i sur. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2021. godini. Zagreb, *Akademija medicinskih znanosti Hrvatske*, 2022
- Tang H, Doerksen RJ, Jones TV, Klein ML, Tew GN. Biomimetic facially amphiphilic antibacterial oligomers with conformationally stiff backbones. *Chem Biol*, 2006, 13(4):427-435
- Thompson JA, Oliveira RA, Djukovic A, Ubeda C, Xavier KB. Manipulation of the quorum sensing signal AI-2 affects the antibiotic-treated gut microbiota. *Cell Rep*, 2015, 10(11):1861-1871
- Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, Spencer J. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol*, 2019, 23;431(18):3472-3500
- Tsai CW, Morris S. Approval of raxibacumab for the treatment of inhalation anthrax under the US Food and Drug Administration “animal rule.” *Front Microbiol*, 2015, 6:1320
- Tyers M, Wright GD. Drug combinations: a strategy to extend the life of antibiotics in the 21st century. *Nat Rev Microbiol* 2019; 17:141–155
- Vance ME, Kuiken T, Vejerano EP, McGinnis SP, Hochella MF, Hull DR. Nanotechnology in the real world: Redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotechnol*, 2015, 21;6(1):1769–80
- Vázquez-Ucha JC, Maneiro M, Martínez-Gutián M, Buynak J, Bethel CR, Bonomo RA, Bou G, Poza M, Gonzalez-Bello C, Beceiro A. Activity of the β -Lactamase Inhibitor LN-1-255 against Carbapenem-Hydrolyzing Class D β -Lactamases from *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61, e01172-17
- Vincent M, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Antimicrobial applications of copper. *Int J Hyg Environ Heal*, 2016, 219, 585–591
- Wagenlehner FME, Cloutier DJ, Komirenko AS, Cebrik DS, Krause KM, Keepers TR, Connolly LE, Miller LG, Friedland I, Dwyer JP, EPIC Study Group. Once-daily plazomicin for complicated urinary tract infections. *N Engl J Med*, 2019, 380:729 –740
- Wan G, Ruan L, Yin Y, Yang T, Ge M, Cheng X. Effects of silver nanoparticles in Combination with antibiotics on the resistant bacteria *Acinetobacter baumannii*. *Int J Nanomed*, 2016, Vol. 11, 3789–3800

Wang R, Lai TP, Gao P, Zhang H, Ho PL, Woo PCY, Ma G, Kao RY, Li H, Sun H. Bismuth antimicrobial drugs serve as broad-spectrum metallo- β -lactamase inhibitors. *Nat Commun*, 2018, 9, 439

Wang Y, Han B, Xie Y, Wang H, Wang R, Xia W, Li H, Sun H. Combination of gallium(III) with acetate for combating antibiotic resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Chem Sci*, 2019, 10, 6099–6106

Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents chemother*, 1995, 39:577–585

Werrett MV, Herdman ME, Brammananth R, Garusinghe U, Batchelor W, Crellin PK, Coppel RL, Andrews PC. Bismuth Phosphinates in Bi-Nanocellulose Composites and their Efficacy towards Multi-Drug Resistant Bacteria. *Chem A Eur J*, 2018, 24, 12938–12949

WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed, 2017, <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>, pristupljeno 11. srpnja 2023

Wyres KL, Lam M, Holt KE. Population genomics of *Klebsiella pneumoniae*. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18(6):344-59

Xenleta (lefamulin) – pregled informacija o lijeku, 2020., https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/xenleta-epar-medicine-overview_hr.pdf, pristupljeno 20. srpnja 2023.

Yang M, Sun K, Zhou L, Yang R, Zhong Z, Zhu J. Functional analysis of three AHL autoinducer synthase genes in *Mesorhizobium loti* reveals the important role of quorum sensing in symbiotic nodulation. *Can J Microbiol*, 2009, vol. 55, no. 2, pp. 210–214

Younis W, Thangamani S, Seleem MN. Repurposing non-antimicrobial drugs and clinical molecules to treat bacterial infections. *Curr Pharm Des*, 2015, 21:4106–4111

Zemdri: Withdrawal of the marketing authorisation application, 2020, <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/withdrawn-applications/zemdri>, pristupljeno 17. srpnja 2023.

Zhao Y, Lu Z, Dai X, Wei X, Yu Y, Chen X, et al. Glycomimetic conjugated photosensitizer for specific *Pseudomonas aeruginosa* recognition and targeted photodynamic therapy. *Bioconjug Chem*, 2018, 29, 3222–3230

Zurawski DV, McLendon MK. Monoclonal antibodies as an antibacterial approach against bacterial pathogens. *Antibiotics*, 2020, 9, 155

8. Sažetak/Summary

Antibiotici su nam godinama služili kao dragocjeno oružje u borbi s bakterijskim infekcijama i u današnje doba teško je zamisliti život bez njih. Visoka učestalost višestrukorezistentnih sojeva bakterija, s naglaskom na patogene okrunjene akronimom ESKAPE, i otežan razvoj novih antibiotika, značajno ograničavaju mogućnosti u terapiji bakterijskih infekcija i često dovode do nepovoljnih kliničkih ishoda. Osim zbog neadekvatne mogućnosti osiguranja zdravlja različitih skupina pacijenata, ove su infekcije i financijski teret za zdravstvo. Problem je prisutan na globalnoj razini i nužno je što brže djelovanje u razvoju lijekova s drukčijim mehanizmima djelovanja. Pojava višestrukorezistentnih sojeva predstavlja veliku opasnost u zdravstvenom sustavu, što se posebice odnosi na pacijente već narušenog zdravlja koji ovakve infekcije najčešće steknu boravkom u ustanovama povezanim sa zdravstvenom skrbi. Kako bismo si osigurali dovoljno vremena za istraživanje novih terapijskih opcija za sprječavanje i liječenje bakterijskih infekcija, moramo se fokusirati na očuvanje učinkovitosti postojećih antibiotika. Iako mnoge alternative antibioticima pokazuju potencijal u rješavanju gorućeg problema antimikrobne rezistencije, u ovom trenutku i dalje nemamo ništa konkretno, stoga nam ne preostaje ništa osim ulagati više napora u bazična i klinička istraživanja.

For decades antibiotics have served as a valuable weapon in the fight against bacterial infections which is why it is impossible to imagine a world without them. However, increasing incidence of MDR strains, especially pathogens summarised by acronym ESKAPE, along with challenges in development of new antibiotics, all contribute to significant limitations in antimicrobial therapies which often result in unwanted clinical outcomes. Besides inadequate care for various groups of patients, these infections act as a financial burden to healthcare systems. The problem is present across the globe and it is important to act quicker when it comes to development of new drugs with different acting mechanisms. The MDR phenomenon presents a serious threat to healthcare systems, which is particularly important for patients with pre-existing comorbidity who are usually the most prone to these types of pathogens by residing in various health care facilities. Although alternatives to antibiotics demonstrate some potential in resolving antimicrobial resistance, we do not have a conclusive solution which is why it is important to invest more effort into basic and clinical trials.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za farmakologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

NOVE FARMAKOTERAPIJSKE MOGUĆNOSTI LIJEČENJA INFEKCIJA UZROKOVANIH ESKAPE PATOGENIMA

Lucija Jagodić

SAŽETAK

Antibiotici su nam godinama služili kao dragocjeno oružje u borbi s bakterijskim infekcijama i u današnje doba teško je zamisliti život bez njih. Visoka učestalost višestrukorezistentnih sojeva bakterija, s naglaskom na patogene okrunjene akronimom ESKAPE, i otežan razvoj novih antibiotika značajno ograničavaju mogućnosti u terapiji bakterijskih infekcija i često dovode do nepovoljnih kliničkih ishoda. Osim zbog neadekvatne mogućnosti osiguranja zdravlja različitih skupina pacijenata, ove su infekcije i financijski teret za zdravstvo. Problem je prisutan na globalnoj razini i nužno je što brže djelovanje u razvoju lijekova s drukčijim mehanizmima djelovanja. Pojava višestrukorezistentnih sojeva predstavlja veliku opasnost u zdravstvenom sustavu, što se posebice odnosi na pacijente već narušenog zdravlja koji ovakve infekcije najčešće steknu boravkom u ustanovama povezanim sa zdravstvenom skrbi. Kako bismo si osigurali dovoljno vremena za istraživanje novih terapijskih opcija za sprječavanje i liječenje bakterijskih infekcija, moramo se fokusirati na očuvanje učinkovitosti postojećih antibiotika. Iako mnoge alternative antibioticima pokazuju potencijal u rješavanju gorućeg problema antimikrobne rezistencije, u ovom trenutku i dalje nemamo ništa konkretno, stoga nam ne preostaje ništa osim ulagati više napora u bazična i klinička istraživanja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 73 stranice, 13 grafičkih prikaza, 8 tablica i 159 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: ESKAPE patogeni, MDR, antimikrobna rezistencija

Mentor: **Dr. sc. Petra Turčić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Petra Turčić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Maja Ortner Hadžiabdić, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Dr. sc. Ivana Perković, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: veljača, 2024.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Pharmacology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

NOVEL PHARMACOTHERAPY POSSIBILITIES FOR TREATMENT OF INFECTIONS CAUSED BY ESKAPE PATHOGENS

Lucija Jagodić

SUMMARY

For decades antibiotics have served as a valuable weapon in the fight against bacterial infections which is why it is impossible to imagine a world without them. However, increasing incidence of MDR strains, especially pathogens summarised by acronym ESKAPE, along with challenges in development of new antibiotics, all contribute to significant limitations in antimicrobial therapies which often result in unwanted clinical outcomes. Besides inadequate care for various groups of patients, these infections act as a financial burden to healthcare systems. The problem is present across the globe and it is important to act quicker when it comes to development of new drugs with different acting mechanisms. The MDR phenomenon presents a serious threat to healthcare systems, which is particularly important for patients with pre-existing comorbidity who are usually the most prone to these types of pathogens by residing in various health care facilities. Although alternatives to antibiotics demonstrate some potential in resolving antimicrobial resistance, we do not have a conclusive solution which is why it is important to invest more effort into basic and clinical trials.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 73 pages, 13 figures, 8 tables and 159 references. Original is in Croatian language.

Keywords: ESKAPE pathogens, MDR, antimicrobial resistance

Mentor: **Petra Turčić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Petra Turčić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Maja Ortner Hadžiabdić, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ivana Perković, Ph.D. *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: February, 2024