

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Zavod za Organsku kemiju

ANTIBIOTICI U OKOLIŠU – UZROCI I POSljedICE

„Antibiotics in the environment: causes and consequences“

Svetlana Iuliana Polianciuc, Anca Elena Gurzău, Bela Kiss, Maria Georgia Ștefan, Felicia Loghin

Kolegij: **Kemijski seminar I**
Profesorica: **dr.sc. Ines Primožić**

Student: **Simona Kovačić**

Zagreb, Rujan 2021.

SADRŽAJ:

1. Uvod.....	3
2. Konzumiranje antibiotika i pojava u okolišu.....	5
3. Antibiotici – klasifikacija i područje primjene.....	6
3.1. Inhibitori sinteze stanične stijenke.....	6
3.2. Inhibitori sinteze DNA.....	7
3.3. Inhibitori sinteze RNA.....	7
3.4. Inhibitori sinteze proteina.....	8
3.5. Interkalatori (zamjena DNA).....	9
3.6. Anaerobni DNA inhibitori.....	9
4. Ponašanje antibiotika u prirodi i njihov utjecaj na prirodu.....	9
4.1. Bakterija otporna na antibiotik (ARB) i Gen otporan na antibiotik (ARG).....	10
4.2. Horizontalni prijenos/transfer gena (HGT).....	11
4.3. Uvjeti prijenosa.....	11
5. Ekotoksikološka procjena rizika antibiotika.....	13
6. Borba protiv otpornosti na antibiotike.....	15
7. Kemija nekih antibiotika.....	17
8. Zaključak.....	23
9. Literatura.....	24

1. UVOD

U današnje vrijeme antibiotici predstavljaju jedno od najvećih medicinskih otkrića prošlog stoljeća. Njihova upotreba znatno je promijenila liječenje širokog spektra infekcija. Međutim, široka i učestala upotreba antibiotika dovela je do izloženosti bakterijskih zajednica i mnogih ekosistema velikoj količini zaostalih antibiotika. Postojeći antibiotici postali su neefikasni za do tada izlječive bolesti te se sve više javlja potreba za uvođenjem i korištenjem novih antibiotika šireg spektra (Slika 1.).

Iz svega navedenog, lako je zaključiti da postoji potreba za boljim poznavanjem i razumijevanjem ponašanja zaostalih antibiotika u prirodi te njihovo nužno detektiranje, kvantifikacija i mogućnosti uklanjanja iz okoliša. Javlja se sve veća potreba za smanjenjem zagađenja prirode antibioticima na uzroku, a isto tako za reguliranjem pojavljivanja u prirodnim ekosistemima te sveukupnoj procjeni rizika.¹

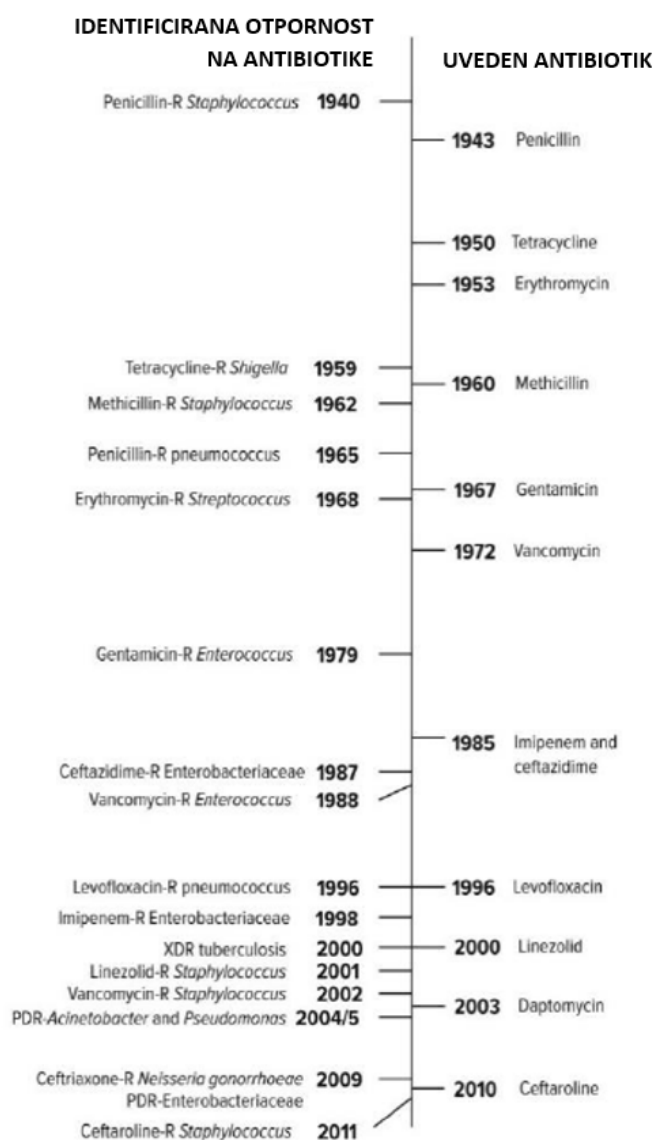


Slika 1. Antibiotici u vodenom okruženju: Pregled scenarija za Europu.²

Činjenica koja iznenađuje jest ta da se antibiotici puno više koriste u liječenju stoke nego ljudi, čime se upotreba i nagomilavanje u prirodi puno teže prati, regulira i bilježi.³ Antibiotici koji se koriste i u ljudskoj i u životinjskoj terapiji dolaze u prirodu preko urina i ostalih izlučevina što upućuje na to da bi se optimiziranjem i/ili kontroliranjem upotrebe antibiotika moglo znatno utjecati na smanjenje zagađenja prirode antibioticima. Poznato je da se 40-90% primijenjenih doza antibiotika izluči izmetom ili urinom, što prije ili kasnije završi u prirodi i na taj način zagađuje tlo, vodene površine, biljke i ostale dijelove okoliša. Upotreba velike količine antibiotika u stočarstvu također zagađuje i agro-kulturalne površine jer se gnojenjem i zalijevanjem otpadnim vodama sa farme također zagađuju i uzgajane kulture. Drugi problem proizlazi i iz nepravilnog skladištenja neiskorištenih medicinskih proizvoda koji završavaju u kanalizacijskih odvodima i također zagađuju otpadne vode, a i zadržavaju se u otpadnom mulju.⁴⁻¹⁰ Iz svega navedenog, lako je zaključiti da antibiotici u prirodi nikako nisu dobri za čovječanstvo. Jednom kada završe u prirodi, postoji velika mogućnost da se ponovno konzumiraju unošenjem zagađene hrane ili vode što doprinosi povećanju otpornosti

bakterijskih populacija, a osim toga i porast selektivne otpornosti u pojedinim (zagađenim) dijelovima okoliša.^{1, 11}

Ono što je također veoma bitno napomenuti jest utjecaj na biljke koje također iz zemlje ili vode apsorbiraju zaostale antibiotike. Nerijetko se na taj način utječe na fiziološke procese u biljkama s eko-toksikološkim posljedicama. Do sada su provedeni brojni kronični i akutni toksikološki testovi koji su pokazali utjecaj antibiotika na funkciju mitohondrija i proces fotosinteze izazivajući ekspresiju gena kloroplasta ili proliferaciju stanice.¹² Drugi testovi pak su pokazali da pojedine zaostale koncentracije antibiotika u zemlji utječu na zakašnjelo klijanje biljaka ili smanjuju nastanak biomase.¹³



Slika 2. Vremenska crta otpornosti na antibiotike i sinteze novih antibiotika.¹⁴

Konačno, zaostali antibiotici mogu promijeniti ljudski mikrobiom i izazvati zdravstvene smetnje kao što su alergijske reakcije, kronične toksične efekte s prolongiranim djelovanjem ili poremećaj u radu probavnog trakta pa čak i završiti s kobnim ishodom.¹⁵

2. KONZUMIRANJE ANTIBIOTIKA I POJAVA U OKOLIŠU

Kontaminacija prirode antibioticima prati se već desetljećima i to još od pojave samih antibiotika (Slika 2.). Zaostali antibiotici prate se u površinskim vodama, podzemnim vodama, vodi za piće, kanalizacijskim vodovima, tlu, povrću, muljevima, Sveukupno je zabilježen porast rezistentnosti na zaostale antibiotike i sve veći negativni ekološki učinak. Povećano nagomilavanje zaostalih antibiotika u prirodi izaziva neuspješnost liječenja nekih drugih bolesti lijekovima koji su do sada imali efekta, upravo iz razloga što razne skupine bakterija stvaraju otpornost, a time se produljuje trajanje raznih bolesti, a u nekim slučajevima je i povećana smrtnost.¹⁶

Jedno od nedavnih iscrpnih istraživanja o ljudskoj potrošnji antibiotika pokazalo je da je od 2000. do 2015. godine potrošnja antibiotika porasla za 65%, izraženo u definiranim dnevnim dozama (DDD, *eng. Defined Daily doses*). Veliki problem stvaraju nerijetka needuciranost liječnika, propisivanje neadekvatnih antibiotika, nekorištenje dostupnih smjernica i gomilanje lijekova koji se ne iskoriste do kraja i završe u otpadu/odvodu. Ono čime svatko od nas može utjecati na cijelu situaciju jest poboljšana osobna higijena, savjesno odlaganje lijekova, cijepljenje te odgovornost i svjesnost u svakom trenu.¹⁷

Da bi se smanjilo zagađenje okoliša i spriječila sve veća pojavnost antibiotika u okolišu te što više uputilo na razboritu upotrebu antibiotika, treba se dobro razmotriti i razumjeti korelacija između pojave otpornosti na antibiotike i same upotrebe antibiotika. Kada bi se dobro razmotrili i analizirali svi utjecaji, lakše bi se definirale politike i postavile smjernice ponašanja za svakodnevnu primjenu. Bengtsson-Palme¹⁸ su u svom radu spomenuli da razborito korištenje antibiotika kod ljudi i životinja može limitirati selektivni pritisak na rezistentne patogene i općenito kontrolirati razvoj otpornosti okoliša. Na taj način bi se mogli izbjeći uvjeti koji izabiru, mobiliziraju i dozvoljavaju nastanak rezistencije gena u zajednicama bakterija, a isto tako bi manje rezistentne bakterije doprele do ljudskog mikrobioma. Osim toga, trebalo bi se odraditi više ciljanih istraživanja u svrhu dešifriranja efekata antibiotika na rezistenciju bakterija u okolišu, a posljedično i na ljudsko zdravlje.¹

Na zagađenje okoliša također uvelike utječu velike farmaceutske tvornice, slabo kontroliranim ispuštanjem otpada u okoliš. Najčešće se radi o specifičnim lokacijama oko same tvornice i najviše u ovom slučaju nastradaju otpadne vode gdje je zabilježena najviša koncentracija antibiotika.^{19,20} Ono što je još bitnije, ni jedna procjena rizika koju je potrebno ispuniti u sklopu dokumenata za registraciju novog farmaceutika u Europi i Americi, ne uzima u obzir emisiju tog lijeka iz proizvodnje, odnosno ne prati do kraja njegovu liniju kretanja kroz „životni vijek“. Sve se svodi na savjest i politiku pojedine farmaceutske kompanije, koliko će, kako će i da li će uopće voditi brigu o otpuštanju i kontroli antibiotika u okolišu.

Nastavno na kontaminaciju okoliša farmaceuticima, Europska komisija je priznala da je „zagađenje voda i tla farmaceuticima ekološki problem u nastajanju i isto tako kritično zabrinjavajuć za ljudsko zdravlje“, ali ispuštanja antibiotika u okoliš nisu regulirana nikakvim standardima ni pravilima.²¹

Zaostali antibiotici u vodenim medijima štete vodenim organizmima te su zbog toga neke antibiotske komponente pod povećalom (amoksisicilin i ciprofloksacin). Europska unija ih je još 2015. stavila na takozvanu Listu promatranja (*eng. Watch list*), a već 2018. su na istu listu dodane još neke supstance kao što su eritromicin, klaritromicin i azitromicin.²² Bez obzira na to, do sada ne postoji nikakav standardizirani eksperimentalni protokol za analizu antibiotika u okolišu ili njihove razgradne produkte. EEA-ina (*eng. European Environment Agency*) uputa definira regulative za određivanje produkata biotransformacije (metabolite), ali da bi se definirala dosljedna procjena, trebaju se odraditi, definirati i primijeniti razne validirane i harmonizirane metode i realističniji eksperimenti na internacionalnom nivou.⁶ Ako i postoje metode za detekciju zaostalih antibiotika, najčešće se radi o kompliciranijim i rjeđe dostupnim analitičkim tehnikama i one najčešće prate samo osnovni spoj, a ne i njegove razgradne produkte.¹

3. ANTIBIOTICI – KLASIFIKACIJA I PODRUČJE PRIMJENE²³

Antibiotici su aktivne supstance koje ometaju rast i/ili ubijaju bakterije.²⁴ Koriste se u borbi protiv bakterija i ostalih mikrobioloških zajednica, a pripadaju skupinama tetraciklina, makrolida, penicilina, aminoglikozida, sulfonamida i fluorokinolona. Klasificirati se mogu prema njihovoj osnovnoj primjeni, odnosno prema afinitetu aktivnosti u borbi protiv bakterija.

Prema aktivnosti ili djelovanju mogu se podijeliti na:

- baktericide: oni koji uništavaju stijenku bakterije;
- bakteriostatike: oni koji sprečavaju rast i razvoj bakterije, nakon čega organizam sam od sebe uklanja staničnu stijenku.

Djelovanje baktericidnih antibiotika je brže jer se odmah uništava stanična stijenka pa se time takvi antibiotici smatraju efektivnijima.

Prema širini djelovanja ili području primjene antibiotike dijelimo na one s:

- širokim spektrom djelovanja: oni koji djeluju na više tipova bakterija
- užim spektrom djelovanja: oni koji djeluju na samo nekoliko bakterijskih vrsta.

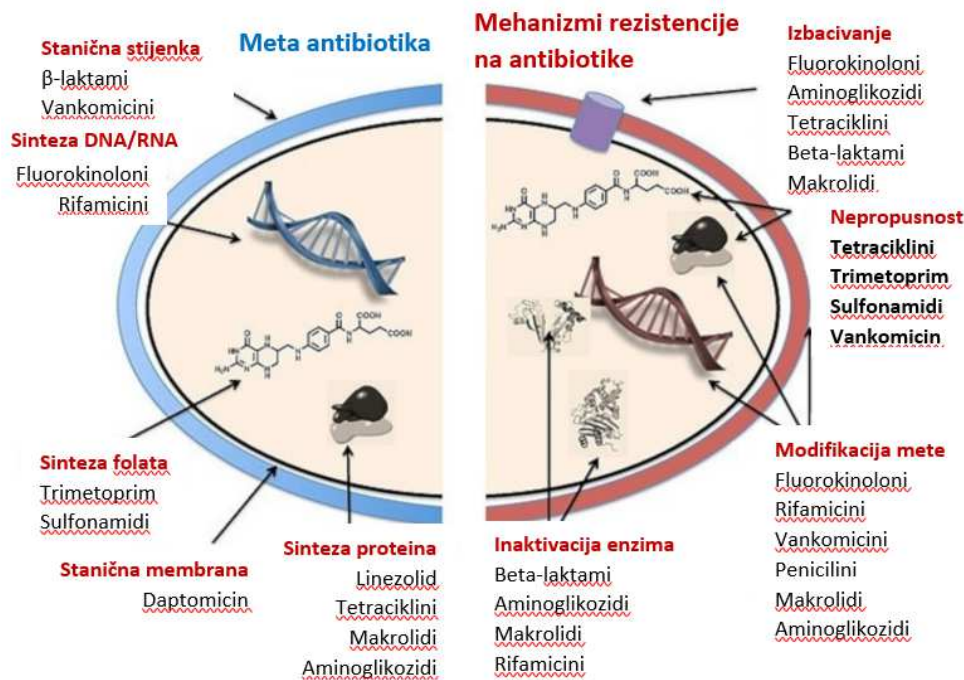
U idealnom slučaju, zaraženoj osobi bi se najprije trebao napraviti detaljan laboratorijski nalaz i tek na temelju nalaza definirati o kojoj vrsti infekcije se radi te koji antibiotik je najbolje propisati. Međutim, najčešće se ne stignu čekati detaljni rezultati laboratorijskih testova te se antibiotici propisuju napamet i bez osnovane sumnje.²⁵

3.1. INHIBITORI SINTEZE STANIČNE STIJENKE:

- **β - Laktami:** Sadrže β -katamski prsten s 3 ugljikova i jednim dušikovim atomom te ketonskim supstituentom vezanim na prsten. Uključuju peniciline, cefalosporine, karbapaneme i cefamicine. Spadaju u najpropisivanije lijekove u svijetu. Imaju bakteriostatsko djelovanje, ali isto tako i bakteriocidno zbog inhibicijskog djelovanja na transpeptidazu i karboksipeptidazu (osnovne enzime) te tako djeluju direktno na umnožavanje i rast bakterija.

- **Glikopeptidi:** Efektivni su u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija i smatraju se zadnjom linijom obrane. Sadrže aglikonski dio koji je zaslužan za njihovu farmakološku aktivnost, zajedno s dvije molekule šećera koje definiraju njihovu hidrofilitnost.

- **Lipopeptidi:** Također su efektivni u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija i uključuju antibiotike koji su ovisni o kalciju: friulimicine, laspartomicine i daptomicine.



Slika 3. Prikaz mete pojedinih antibiotika i vrsta nastale rezistencije.²⁶

3.2. INHIBITORI SINTEZE DNA:

- **Sulfonamidi:** Sulfonamidi spadaju u bitnu kategoriju lijekova zbog svojih farmakoloških efekata koji uključuju antibakterijska svojstva, antikarbon anhidrazu, hipoglikemijska, diuretička i antitirodina djelovanja. Njihovi derivati također imaju *in vitro* i *in vivo* antitumorska djelovanja.

- **Fluorokinoloni:** Imaju specifičan način djelovanja. Njihov primarni tip je efektivan samo u borbi protiv gram-negativnih bakterija dok su njihovi post-antibiotski efekti i farmakokinetička djelovanja adekvatna u borbi protiv fakultativnih i aerobnih gram-negativnih bakterija.

3.3. INHIBITORI SINTEZE RNA:

- **Rifamicini:** Uključuju veoma poznati antibiotik širokog spektra, rifampicin. Veoma je moćan u borbi protiv patogena i koristi se u borbi protiv tuberkuloze. Derivati rifamicina su rifampin i rifaksimim.

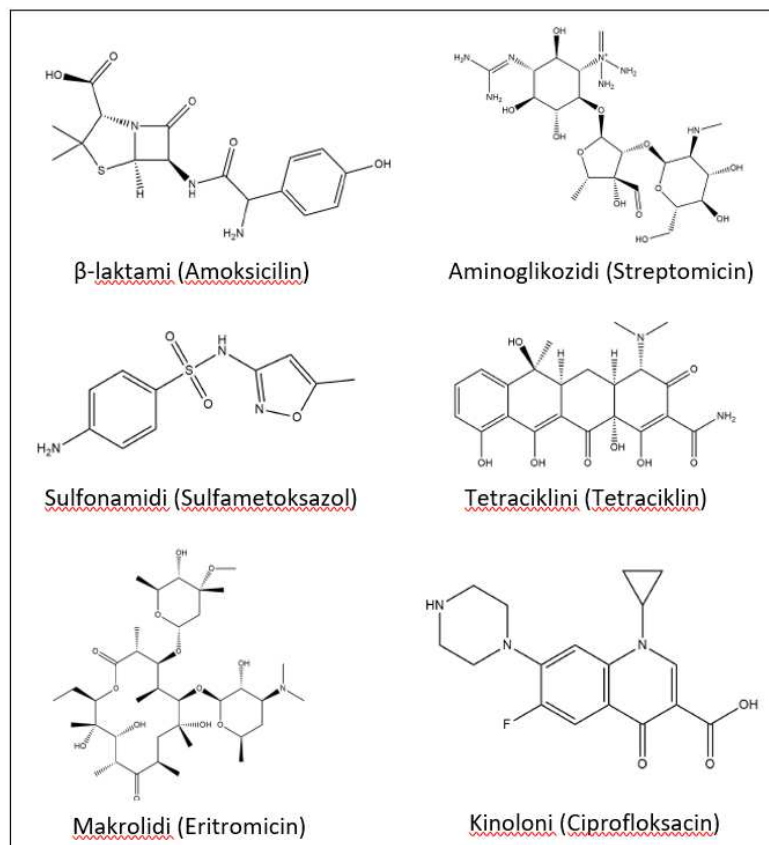
- **Resistomicini:** Resistomicin je derivat tetrahidroksiantrona, a izoliran je iz kulture *Streptomyces sulphureus*. Radi se o pentacikličkom poliketidnom metabolitu i ima mnoga farmakološka djelovanja usmjerena ka inhibiciji sinteze RNA.

3.4. INHIBITORI SINTEZE PROTEINA:

- **Tetraciklini:** Ova skupina antibiotika uključuje tetracikline, oksitetracikline i klortetracikline. Tetraciklini su efektivni u borbi protiv rickettsiae, mikroplazmi, klamidije i praživotinjskih parazita. Također su korisni u prevenciji malarije i spadaju u antibiotike širokog spektra primjene koji se koriste u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija.

- **Aminoglikozidi:** Koriste se za primjenu kod ljudi, ali i kod životinja. Antibiotici su širokog spektra, a koriste se u borbi protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Daju i pozitivne reakcije u borbi protiv tuberkuloze koja je opće poznato otporna na većinu lijekova. Semisintetski aminoglikozidi su amikacin, dibekacin, isepamicin, arbekacin i netilmicin.

- **Makrolidi:** Predstavljaju razred lijekova čija se struktura sastoji od barem 12 makrocikličkih prstena laktone različitih veličina, zajedno s amino šećerom (deoksi). Pokazuju razne aktivnosti kao što je antifungalno djelovanje, a djeluju kao imunosupresivi i prokinetici. Djeluju protiv nekih gram-pozitivnih i ograničenog broja gram-negativnih bakterija pa imaju ograničen spektar djelovanja. Neki od semisintetskih makrolida su klaritromicin, roksitromicin, eritromicin i azitromicin.



Slika 4. Strukturalni prikaz nekih od najbitnijih razreda antibiotika.¹⁴

- **Amfenikoli:** Kloramfenikol, tiampenikol i florfenikol su derivati amfenikola. Oni se vežu na ribosomske peptidne transferaze i inhibiraju nastanak proteina te spadaju u antibiotike širokog spektra. Koriste se u liječenju protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterijskih infekcija.

- **Linkozamidi:** Dolaze od prirodnog linkomicina. Neki derivati su polusintetički, kao što su klindamicin i pirlimicin. Vežu se na 50S ribosomatsku jedinicu kako bi inhibirali sintezu proteina. Posebno se koriste u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija, bakteriostatski su, a nekad mogu biti i bakteriocidni.

- **Pleuromutilini:** Prvi su izolirani iz *Pleurotus mutilus* i *Pleurotus passeckerianus*. Derivati sadrže lanac od 14 ugljikovih atoma s heterocikličkim dijelom i djelotvorni su u borbi protiv gram-pozitivnih bakterija. Koriste se za liječenje infekcija na koži i respiratornog trakta. Uključuju i derivate kao što su tiamulin i valnemulin.

3.5. INTERKALATORI (ZAMJENA DNA):

- **Antraciklini:** Doksorubicin, daunorubicin i epirubicin ubrajaju se u aktivne citotoksične reagensne. Koriste se u tretiranju hematoloških zloćudnih bolesti i formiranih tumora. Utječu i na sintezu RNA i DNA. Razred I antraciklina uključuje adriamicin, karminomicin i puomicin i oni su inhibitori DNA, dok Razred II uključuje inhibitore sinteze RNA i to su aklacinomicin, marcelomicin i musetamicin.

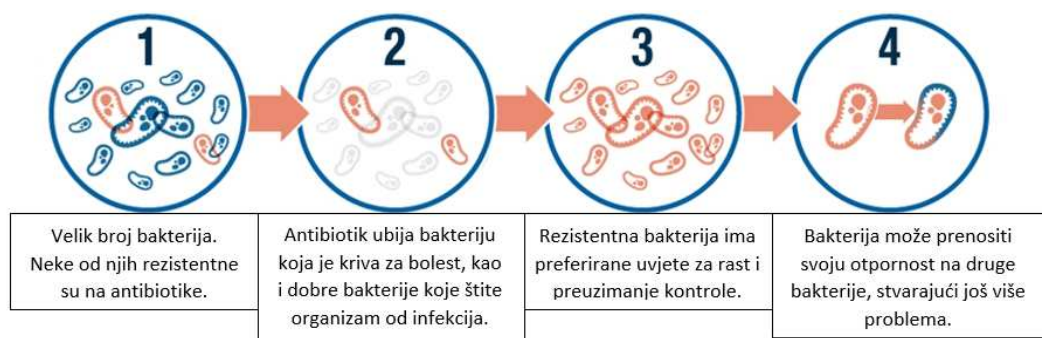
3.6. ANAEROBNI DNA INHIBITORI:

- **Nitrofurani:** Uključuju furaltadon, furazolidon i nitrofurantoin. Do antibakterijskog djelovanja dolazi zbog nitro skupine na 2-supstituiranom furanu na poziciji 5. Na položaju 2 nalazi se karbonilna skupina. Ukoliko se na mjestu furana nalazi tiofen ili pirol (heterociklički prsten), tada ne postoji terapijsko djelovanje.

- **Nitroimidazoli:** Liječe infekcije koje su nastale djelovanjem anaerobnih bakterija. Imidazol se koristi u liječenju tetanusa, ginekološke sepse i apscesa. Metronidazol i 5-nitroimidazol su dva metabolita imidazola.

4. PONAŠANJE ANTIBIOTIKA U PRIRODI I NJIHOV UTJECAJ NA PRIRODU

Antibiotici se smatraju perzistentnim ili pseudo-perzistentnim supstancama jer je njihova ulazna stopa u okoliš veća od stope eliminacije. Obuhvaćaju heterogene komponente s različitim funkcionalnim grupama i odgovorne su za različita fizikalno-kemijska svojstva i ponašanja u okolišu.²⁷ Isto tako, prisutnost zaostalih antibiotika u okolišu ovisi o farmakokinetičkom profilu samog antibiotika. Postoje različiti antibiotici, kao što su antibiotici siromašne bioraspodjelivosti nakon oralne primjene, antibiotici koji se primjenjuju parenteralno i izlučuju se u gastro-intestinalni trakt i antibiotici koji se koriste u kolektivnim liječenjima kod životinja.¹



Slika 5. Slikoviti prikaz kako dolazi do bakterijske rezistencije prema antibioticima.²⁸

4.1. BAKTERIJA OTPORNA NA ANTIBIOTIK (ARB, eng. *Antibiotic-resistant bacteria*) I GEN OTPORAN NA ANTIBIOTIK (ARG, eng. *Antibiotic-resistant gene*)

Bakterijama koje su otporne na antibiotik smatraju se sve bakterije koje nisu pretjerano osjetljive na jedan ili više antibiotika te su otporne na njihov utjecaj. To znači da njihov rast umnožavanje više nisu ugroženi u prisutnosti antibiotika. Upravo iz navedenih razloga se puno teže liječe bakterijske infekcije trenutno dostupnim antibioticima. Otpornost neke bakterije na pojedini antibiotik može postojati u prirodi same bakterije ili može biti naknadno stečena karakteristika. Bakterija može steći otpornost pomoću mutacija ili transferom gena iz već rezistentnih bakterija, a u okolišu se detektira uzgojem i karakterizacijom bakterija. Gen otporan na antibiotik je dio genetičkog materijala (DNA) u kojem je lociran kapacitet otpornosti na antibiotik. Postojanje ARG-a u okolišu detektira se metodama molekularne biologije. Kada govorimo o otpornosti na antibiotike, u obzir se uzimaju i bakterije i gen otporan na antibiotike.²⁴

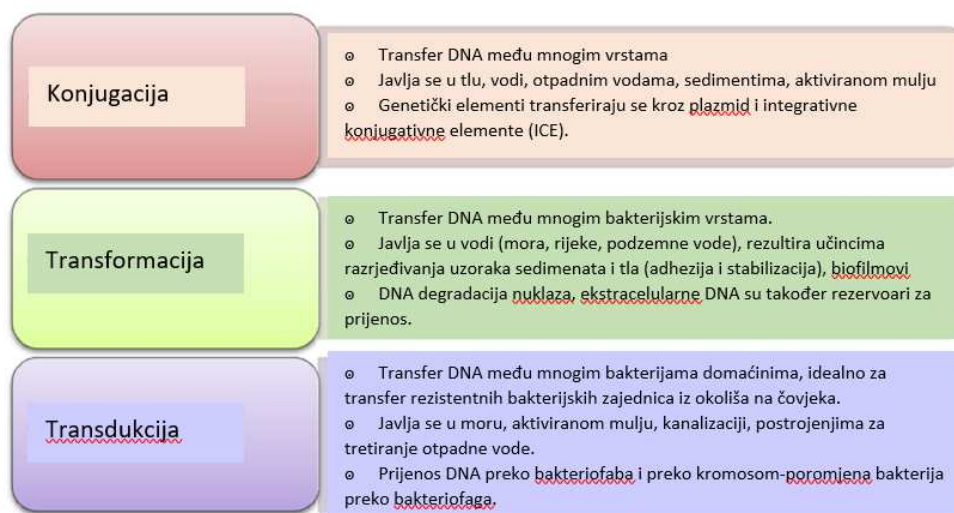
U današnje vrijeme sve više pažnje privlače upravo bakterije i geni koji su naknadno stekli otpornost, što znači da su infekcije, koje su se do sada uspješno liječile pojedinim antibioticima, sada otporne na taj isti antibiotik. Primjeri takvih bakterija su MRSA (eng. *Methicillin-resistant staphylococcus aureus*), ESBL *E.coli* (eng. *extended spectrum β -lactamases*) ili MRGN (eng. *Multi-resistant Gram-negative bacteria*). Takve rezistentne bakterije obično nastaju na mjestima gdje se antibiotici najčešće koriste ili proizvode i to u velikim količinama, a najčešće i nekontrolirano otpuštaju u okoliš. Takve žarišne točke su oko bolnica, poljoprivrednih jedinica ili kao što smo već spomenuli, farmaceutskih tvornica. Širenje ARB je u tim mjestima olakšano najčešće preko otpadnih voda, ali i kanalizacijskog mulja, fermentacijskih ostataka, izmeta i slično.¹

Čak i ograničene koncentracije ostataka antibiotika u okolišu, dovoljne su za nastajanje ARG te one imaju selekcijsku prednost pred ne-rezistentnim bakterijama (selekcijski pritisak). Takva selekcija također može biti potaknuta drugim zagađivačima u prirodi kao što su biocidi, teški metali (cink i bakar) i mješavine antibiotika. Ako bakterija nosi nekoliko otpornih gena koji su smješteni na istom mobilnom genetičkom elementu, taj jedan genetički element može razviti otpornost kod puno drugih supstanci. Na taj način teški metali, recimo, isto mogu pospješiti širenje rezistentnih bakterija i gena. U nutritivno bogatim otpadnim vodama, kanalizacijskom mulju i gnojnici, gustoća kolonija bakterija je veoma velika što također omogućava brži i lakši

horizontalan prijenos gena (HGT, eng. *Horizontal gene transfer*) s jedne na drugu bakteriju. Ako se svi navedeni parametri poklope na mjestu gdje je zagađenje okoliša antibioticima jače, situacija se može lako oteti kontroli.²⁴

4.2. HORIZONTALNI PRIJENOS/TRANSFER GENA (HGT):

Kao što smo već spomenuli, gen koji je otporan na antibiotike, može se prenositi među mikroorganizmima s lakoćom i to horizontalnim prijenosom, kao dijelom prirodnog procesa adaptacije ili se može generirati genetskom mutacijom ili rekombinacijom. Radi se o potomcima neprimjetnoj razmjeni genetskog materijala, a može se odvijati preko tri mehanizma: transformacijom, transdukcijom ili konjugacijom. Transformacija se odvija kada organizmi u prirodi pakupe egzogene fragmente DNA koji su prisutni u okolišu u kojem se organizmi nalaze. Transdukcija se dešava kada bakteriofag ubrizga DNA u bakterijsku stanicu, dok do konjugacije dolazi kada se DNA transferira od donorske stanice u receptorsku stanicu preko multi-proteinskog konjugacijskog kompleksa. Svaki od navedenih mehanizama može se primijeniti prilikom transfera ARG-a iz okoliša bogatog rezistentnim bakterijama u neku od brojnih bakterijskih vrsta.²⁹



Slika 6. Mehanizmi transfera gena otpornog na antibiotike preko horizontalnog prijenosa gena (HGT).³⁰

Bakterije rezistentne na antibiotike zapravo nastaju zbog prilagodbe na nove, nepovoljne uvjete, ali povoljne za nastajanje novih bakterijskih fenotipova.³¹

4.3. UVJETI PRIJENOSA:

Biološka aktivnost antibiotika u različitim matricama u prirodi ovisi o tome koliko im odgovaraju ili ih odbijaju okolišni uvjeti, da li im odgovara pH, sadržaj organske materije, vrsta tla, sadržaj vode, tip organizama prisutnih na toj lokaciji itd. Sve navedeno otežava definiranje uniformne metode za detekciju i praćenje koncentracije zaostalih antibiotika i njihovih produkata u okolišu.³² Najbitnije od svega jest razumjeti degradaciju antibiotika u okolišu, pogotovo zato jer je njihov utjecaj na vodeni i zemaljski ekosustav još uvijek nedovoljno razjašnjen i istražen. Postoje razni mehanizmi raspada antibiotika u prirodi, koji mogu biti biotički, kao što je biodegradacija bakterijama i gljivicama (mikrobna degradacija) ili/i

abiotički, koji uključuju hidrolitička, fotolitička, oksidacijska ili reduksijska djelovanja, naravno sve ovisi o fizikalno-kemijskim svojstvima i uvjetima u okolišu (temperatura, svjetlost, vlaga...)¹.

Postoje i drugi procesi kao što su hlapljivost, adsorpcija, formiranje ostatka koji se ne mogu ekstrahirati, a isto tako mogu koristiti u sprječavanju rasipanja aktivnih supstanci. Transformacija same supstance je brža u aerobnim uvjetima nego u anaerobnim, a više temperature favoriziraju degradaciju komponenti, a osim toga mogu i utjecati na strukturu same mikrobiološke zajednice.⁶

Schlüsener i suradnici³³ su proveli istraživanje o otpornosti makrolida i odredili polu-živote u raznim uzorcima tla. Vremena zadržavanja varirala su od 5 do 120 dana. Jedno istraživanje koje se provelo u laboratoriju, pokazalo je da se tilozin mineralizira i nepovratno veže na krute čestice iz tla.³⁴ Isprobavala se i foto-inducirana degradacija antibiotika³⁵, osvjetljavanjem UV svjetlošću došlo je do raspadanja za 0.2 min – 200 min, ovisno o supstanci (azitromicin, eritromicin, tilozin). Autori predlažu UV osvjetljavanje kao učinkovitu metodu za uklanjanje zaostalih makrolidnih antibiotika iz okolišnih vodenih medija.

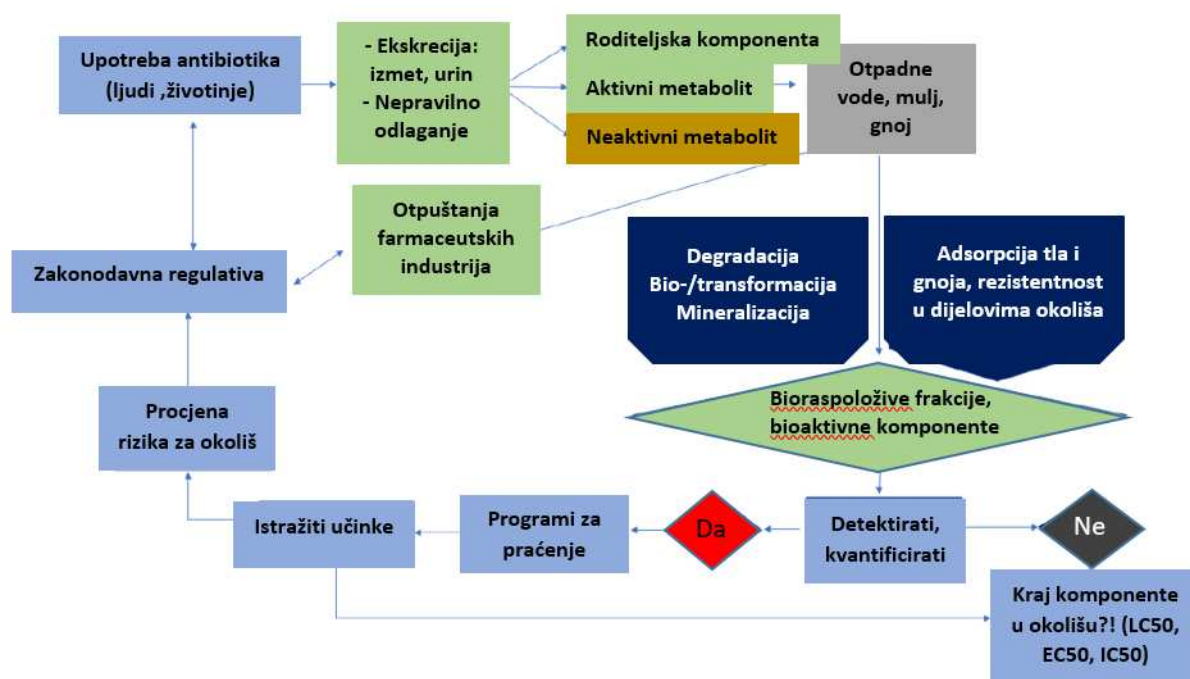
Međutim, neka istraživanja pokazuju i zastrašujuće podatke. Većina fluorokinolona su visoke kemijske stabilnosti i ne mogu se lako degradirati ni povišenom temperaturom ni hidrolizom. Iz tog razloga se brzo transferiraju iz vode u tlo i sedimente.³⁶ Veće koncentracije ciprofloksacina i norfloksacina u vodenim medijima mogu modificirati bakterijske sojeve *Sallmonella tryphimurium* i izazvati genotoksične efekte na vodenim organizmima.³⁷ Penicilini i cefalosporini pak imaju visoku osjetljivost na hidrolizu, do čega može doći unutar tjedan dana u većini površinskih voda i nekoliko dana u alkalnijim medijima.³⁸ Isto tako imaju smanjenu tendenciju adsorpcije na čestice tla, ali mogu tvoriti komplekse s kationima i akumulirati se u kanalizacijskim muljevima i sedimentima. To može objasniti otpornost bakterija na cefalosporine pronađene u kanalizacijskom mulju kojom su se tretirale biljke. Znači da se antibiotici koji nisu skloni adsorpciji zadržavaju u vodenim medijima, a oni koji to jesu, se akumuliraju u tlu. Degradacijski produkti pojedinih antibiotika mogu biti bioaktivne komponente koje potencijalno mogu biti toksičnije od samih komponenti i na taj način znatno utjecati na žive organizme ili mikrobiološke zajednice.¹³

Vremenski uvjeti također mogu utjecati na zadržavanje antibiotika u okolišu. Kisele kiše recimo mogu produžiti vrijeme zadržavanja antibiotika na površini tla i time riskirati da ga biljke crpe iz tla ili direktno utjecati na mikroorganizme u tlu. Beta-laktami se recimo smatraju manje toksičnima, ali oni isto utječu na raspodjelu pesticida u nižim biljkama.¹² Kad smo na beta-laktamima, jedno istraživanje zabilježilo je inhibicijsko djelovanje enzima katalaze u mozgu odrasle ribe *Danio rerio* kada je izložena prisutnosti većih koncentracija amoksicilina u otopinama (50-100 mg/L). Tetraciklini imaju fototoksične efekte koji mogu uzrokovati aberacije kromosoma i inhibirati rast biljke, reducirajući pritom sadržaj fotosintetskog klorofila i karotenoidnih pigmenata u biljkama. Oksitetraciklin se biokoncentrira u nekim vodenim biljkama koje su predviđene za ljudsku konzumaciju, a prethodno su tretirane svinjskim gnojem.^{1, 39}

Postoji još mnoštvo sličnih istraživanja koja i pokazuju i dokazuju brojne negativne i zastrašujuće posljedice djelovanja zaostalih antibiotika na normalnu funkciju bioloških procesa u okolišu. Čak i najmanje koncentracije mogu se dugo akumulirati u određenim medijima i dugoročno izazivati razne probleme.

5. EKOTOKSIKOLOŠKA PROCJENA RIZIKA ANTIBIOTIKA

Jedan način procjene rizika povezan sa prisutnošću antibiotika u okolišu bazira se na određivanju rizičnih koeficijenata koji su prikazani na slici 7. Generalni indikatori toksičnosti, kao što su LC_{50} (eng. *lethal concentration*), EC_{50} (eng. *effective concentration*) i IC_{50} (eng. *mean inhibitory concentration*), definirani su u raznim istraživanjima koja su evaluirala utjecaj antibiotika na organizme kao što su zebra riba, *Daphnia*, alge, školjke i ostale vodene organizme.⁷ Bez obzira na brojne primjere utjecaja zaostalih antibiotika na okoliš, istraživanja se najčešće ipak provode na izoliranim slučajevima u laboratoriju. Ono što je najčešće primjer, u prirodi najčešće završi mješavina više antibiotika, a vrlo rijetko samo jedan od njih individualno. Kao posljedica se može očekivati zbrajanje, sinergija ili antagonizam bioloških efekata smjese antibiotika. U slučaju da se u nekoj smjesi u prirodi nalaze samo dva antibiotika, njihov rizik toksičnosti za okoliš je veći za 50-200% u usporedbi sa samo jednim izoliranim antibiotikom. Prema svemu navedenom, ERA (eng. *Environmental Risk Assessment*) bi također trebao sadržavati podatke o toksičnosti smjesa te dodavanje metabolita i degradacijskih produkata.^{32, 40} Posljednje, ali ne i manje bitno i što je također važno uzeti u obzir jest činjenica da većina molekula koje su se uvodile prije 2006. godine nisu okarakterizirane ERA-om, stoga, ako su iste molekule uvedene na tržište nakon te godine, informacije nisu kompletne.⁴¹



Slika 7. Antibiotici u okolišu – od ispuštanja do analize i procjene rizika.¹

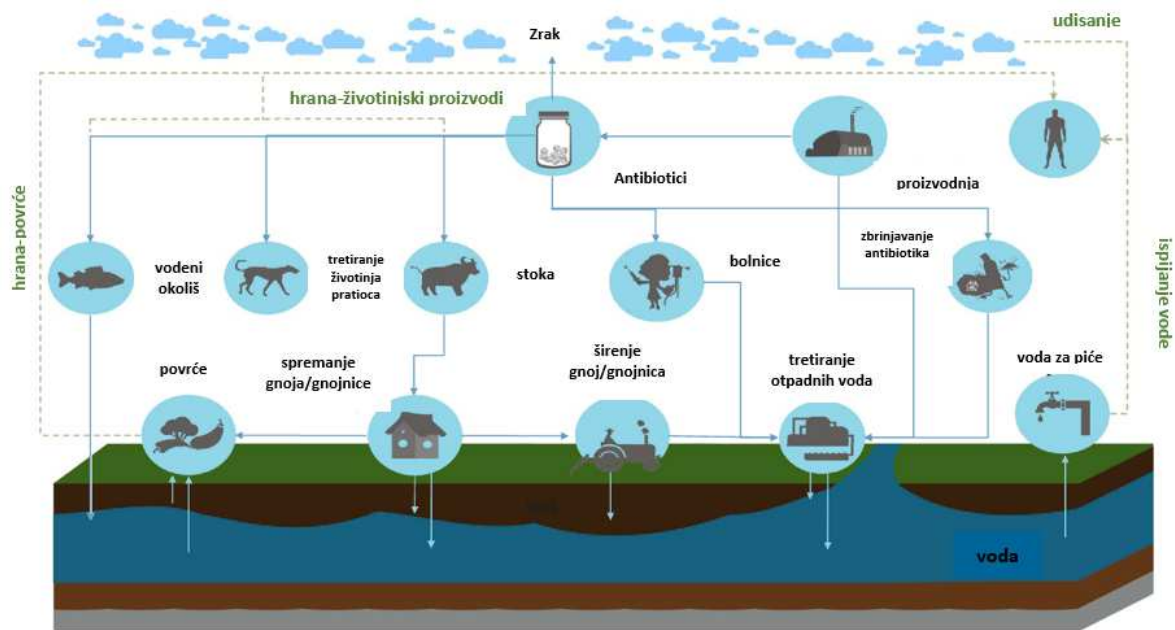
Slika 7. dobro prikazuje prethodno opisanu problematiku koja se odnosi na sudbinu antibiotika i njihovih metabolita (aktivnih i neaktivnih komponenti) u okolišu, ubrzo nakon izlučivanja/ispuštanja. Prikazani su i ključni koraci za njihovo praćenje i (re-)procjenu rizika za okoliš, prema kojima bi se mogla voditi sva regulatorna tijela. Povećana upotreba antibiotika povećava i koncentraciju zaostalih antibiotika te njihovih produkata transformacije u okolišu. Praćenje i istraživanje efekata na zaostale antibiotike u okolišu dali bi čvršću znanstvenu bazu i temelj prema kojima bi se procjene rizika nadogradile i definirale smjernice za rad.

Kako bi se procijenio ekotoksikološki rizik zaostalih antibiotika na mikroorganizmima, obično se računaju HQ (*eng. Hazard Quotient*) i RQ (*eng. Risk Quotient*). HQ ili količnik opasnosti, predstavlja omjer potencijalne izloženosti nekoj supstanci (MEC, *eng. Measured environmental concentration*) i levela pri kojem se očekuje da ne postoji štetni učinak (PNEC, *eng. Predicted no effect concentration*). RQ je omjer očekivane koncentracije u okolišu (PEC, *eng. Expected environmental concentrations*) i očekivane koncentracije bez efekta (ENEC, *eng. Expected non-effect concentration*). Ukoliko je vrijednost HQ manja od 1, tada postoji manji rizik, a ukoliko prelazi 1, tada sugerira mogućnost potencijalnog velikog rizika. RQ vrijednosti također predviđaju rizik za okoliš, prikazano na Slici 8.¹⁸

RQ vrijednosti	Rizik za okoliš
manje od 0.01	nema rizika
između 0.01 – 0.1	nizak rizik
između 0.1 – 1	srednji rizik
više od 1	visok rizik

Slika 8. Leveli rizika definirani prema RQ vrijednostima.³⁰

Bengtsson-Palme i suradnici su također procijenili gornje limite minimalnih selektivnih koncentracija svih najčešće korištenih antibiotika dok su G. Le Page i suradnici predložili limit od 100 ng/L antibiotika puštenih u okoliš, kako bi se zaštitio ekosistem i limitirao rizik razvoja otpornosti na antibiotike. Štoviše, naglasili su da su trenutne ERA regulative neadekvatne zbog manjka informacija o bakterijama i drugim mikroorganizmima i nedefiniranih testova kojima bi se definirale prihvatljive koncentracije i na taj način dugoročno štitilo ljudsko zdravlje, ali i zdravlje okoliša.⁴²



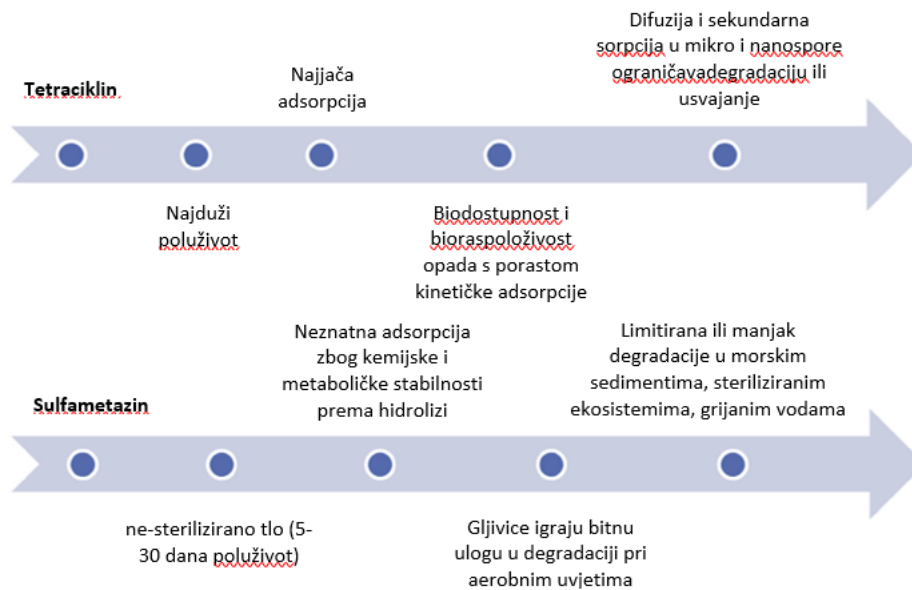
Slika 9. Izloženost ljudi na otpornost antibiotika povezano sa zaostalim antibioticima u okolišu.⁴³

Na slici gore prikazan je princip prema kojem bi se svaka procjena rizika trebala definirati i što bi se sve trebalo uzeti u obzir. Prisutnost antibiotika u okolišu lako se otme kontroli jer postoji puno točaka ispuštanja u prirodu koje se ne kontroliraju niti ne reguliraju.

6. BORBA PROTIV OTPORNOSTI NA ANTIBIOTIKE

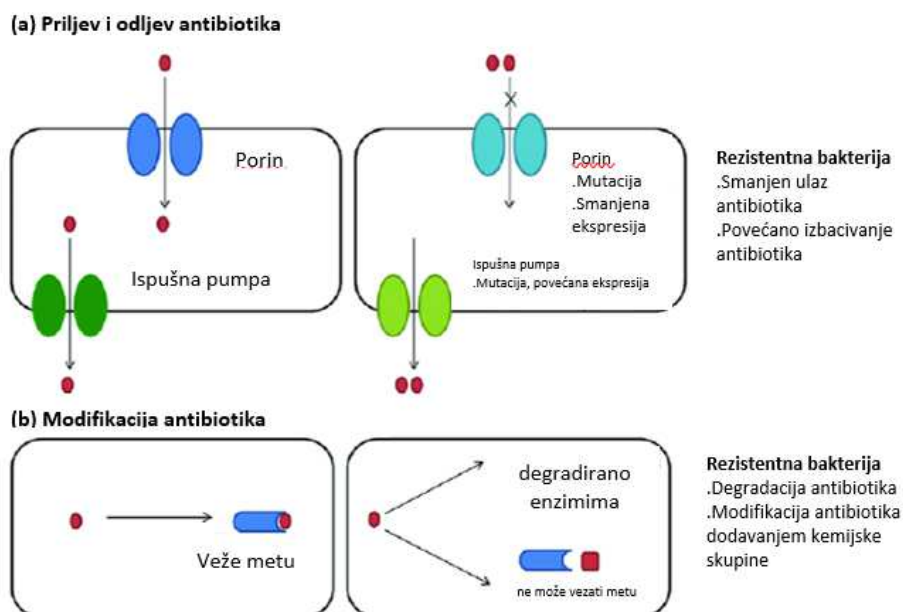
Kao što smo već prethodno spominjali, otpornost na antibiotike u okolišu je općenito veća s većom needuciranošću liječnika, češćim propisivanjem neadekvatnih antibiotika, nekorištenjem dostupnih smjernica, a ono što mi možemo napraviti već sada jest poboljšati osobnu higijenu, savjesno odlagati lijekove, cijepiti se te biti odgovorni i savjesni u svim svojim svakodnevnim postupcima koji potencijalno utječu na okoliš.

Ono što je neminovno, potrebno je definirati učinkovite strategije za tretiranje otpadnih voda, tla, kanalizacijskih taloga i voda, itd. kako bi se uklonili antimikrobiološki ostaci iz okoliša. Neke od efektivnih metoda za ubijanje rezistentnih bakterija u otpadnim vodama su zračenje ozonom ili UV zrakama, čime se direktno uništava DNK bakterija. Kloriranje je također efektivna metoda, ali se primjena takve metode još mora detaljnije istražiti. Također se radi puno istraživanja o tretiranju uzoraka iz okoliša u bioreaktorima s aerobnim i anaerobnim membranama, što je održivi proces i troši se malo energije tijekom tretiranja otpadnih voda.⁴⁴



Slika 10. Sudbina i ponašanje u tlu dvaju najčešće korištenih antibiotika.³⁰

Što se tiče bio-krutina, one su plodno tlo za širenje ARG-a, stoga je isto potrebno obratiti dovoljno pažnje na njihovo saniranje. Jedna od efektivnih metoda je piroliza biomase, čime se reduciraju bakterije, a s njima i ARG, a osim toga se otpadni materijal pretvara u energijom-bogate komponente kao što su sintetska ulja i plinovi. Slično pirolizi, fitoremedijacija je također efektivna u uklanjanju antibiotika iz okoliša, a time i u smanjenju otpornosti na antibiotike. Ono što je bit svega jest da se trebaju spojiti glave i vidjeti koji procesi su najefektivniji za koju vrstu i koji dio zagađenog okoliša te koji su procesi ekonomski najisplativiji i izvedivi. Isto tako i nikako manje bitno jest probuditi svijest među ljudima, pokrenuti mase i educirati ljude o mogućim posljedicama i stravičnim podacima koji na žalost iz godine u godinu postaju sve gori.⁴⁴



Slika 11. Obrambeni mehanizmi bakterije.¹⁴

Neke od alternativnih terapija kojima bi se mogli istrijebiti ARB i ARG također su mogući načini za reagiranje na postojeći problem. Načini na koje mikroorganizmi razvijaju otpornost prema antibioticima jesu inaktivacija enzima, brzo smanjenje propusnosti ćelije, zaštita ciljanih molekula, izmjena ciljanih mjesta vezanja te brže izbacivanje supstance iz bakterije (*eng. efflux*, Slika 11.a). Postoje čak i podaci koji navode da pojedini mikrobi oko sebe stvaraju neku vrstu biofilma, što bi moglo biti inducirano antibioticima. Korištenje nano-materijala u borbi protiv ARB također je postao bitni alat u istrebljenju otpornosti na antibiotike u okolišu. Mehanizam djelovanja još uvijek nije do kraja razjašnjen, ali nano-čestice, čija je barem jedna dimenzija veličine 1-100 nm imaju veliku ukupnu površinu koja se može koristiti za vezanje raznih molekula, a isto tako se mogu funkcionalizirati pojedinim skupinama te se time njihova ciljana aktivnost i funkcija može uvelike pojačati.⁴⁴

Kao što smo već napomenuli, abiotička razgradnja podrazumijeva procese adsorpcije, hidrolize, fotolize te reakciju oksidacije i redukcije. Koliko će sam antibiotik biti osjetljiv na abiotičku degradaciju ovisi o kemijskoj strukturi antibiotika, a općenito čak do 70% antibiotika koji završe u okolišu uopće ne promijene strukturu ili se promijene u različite razgradne produkte koji u neku ruku također predstavljaju sličnu aktivnost kao i antibiotici. Neki od tih produkata mogu za ekosustav biti čak i toksičniji od samih antibiotika. Abiotički faktori mogu djelovati na određeni antibiotik i oni mogu reagirati zbog svoje kemijske strukture dok drugi faktori istovremeno uopće ne djeluju na taj isti antibiotik. Tetraciklini recimo imaju manje strukture od cefaleksina i brže se raspadaju pod UV svjetlosti ili pri fotolitičkim tretiranjem. Osim tetraciklina, sulfonamidi, tilozin, nitrofurani ili (fluoro)kinoloni su također osjetljivi na UV svjetlost, ali su fluorokinoloni u potpunosti otporni na hidrolizu. Već smo spomenuli i kisik i ozon koji se puno koriste u oksidacijskim procesima raspada antibiotika i to suldametoksazola i oksitetraciklina. Metalni ioni kao što su živa, bakar, cink, kadmij i kobalt, uključeni su u raspad beta-laktamskih antibiotika kao što su cefalosporin i penicilin, a djeluju na način da lome β -laktamski prsten. Enzimi također imaju bitnu ulogu u borbi protiv otpornosti na antibiotike na način da modificiraju ili degradiraju sam antibiotik (Slika 11.b).¹⁴

7. KEMIJA NEKIH ANTIBIOTIKA⁴⁵

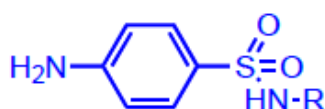
Tema antibiotika i njihova sudbina koja sve više završava u okolišu, u današnje vrijeme plijeni sve više pozornosti. Nekako su najviše u fokusu sulfonamidi i β -laktami koji glase kao najčešće korišteni antibiotici u praksi, a time je zabilježena i najveća otpornost na te dvije vrste antibiotika u okolišu. Bakterije evoluiraju i stvaraju sve efektivniju biokemijsku obranu protiv antibiotskih lijekova.

Da napokon malo spomenemo i same bakterije i nekoliko osnovnih crta o njima. Radi se o jednostaničnim mikroorganizmima koje je prvo uočio Anton van Leeuwenhoek 1670-ih godina uz pomoć mikroskopa. Relativno su jednostavne strukture, a funkcioniraju na principu biokemijskih procesa s enzimima, koji im služe i za sintezu osnovnih vitamina. Sadrže staničnu membranu i staničnu stijenku koja je od presudne važnosti za preživljavanje bakterijske stanice te omogućuje bakterijama da koloniziraju veoma široko područje u prirodnom okolišu. Stanična

stijenka također prevenira nekontroliran prolazak vode u stanicu te štiti bakteriju od brojnih utjecaja iz okoliša kao što su toplina, hladnoća, kiseli i lužnati medij, slanost i radijacija.

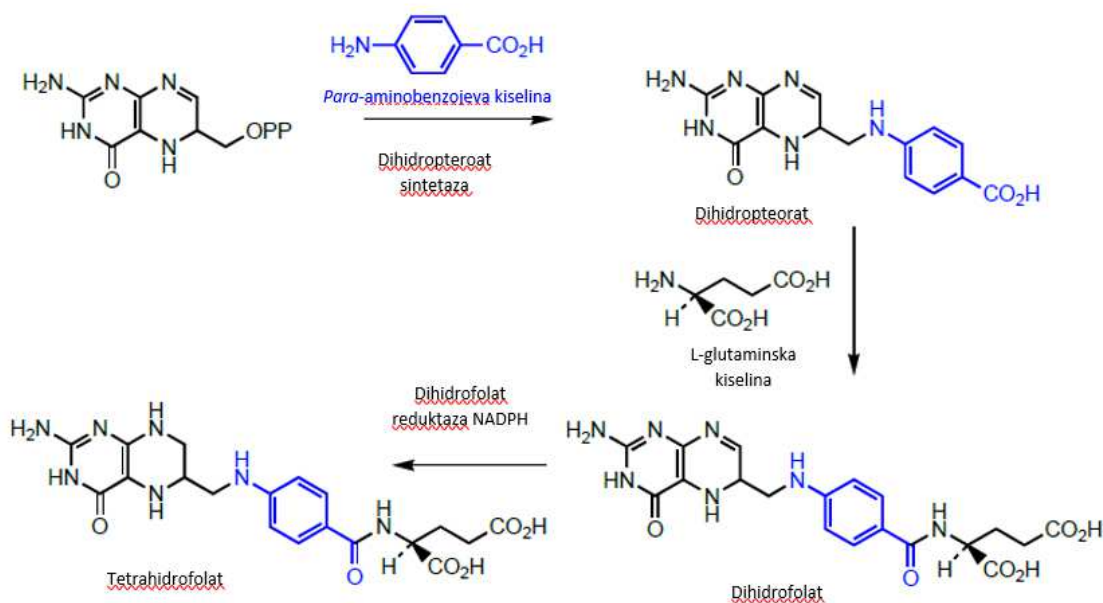
Bakterije se mogu okarakterizirati prema tehnici obojenja, prema kojoj se mogu definirati kao gram-pozitivne i gram-negativne bakterije. Sama tehnika podrazumijeva dodavanje ljubičaste boje i ispiranje acetonom. Bakterije s tankom staničnom stijenkom (20-40 nm) apsorbiraju boju i zaprimaju obojenje te ostaju obojene ljubičasto. Takve bakterije su gram-pozitivne. Bakterije pak koje imaju još tanju stijenku (< 10 nm), apsorbiraju samo malu količinu ljubičaste boje koja ispiranjem acetonom daje zaostalo roza obojene i one se nazivaju gram-negativnim bakterijama. Gram negativne bakterije također posjeduju vanjsku membranu sastavljenu od liposaharida koja je slična staničnoj stijenci. Ta razlika u staničnoj stijenci igra glavnu ulogu u ciljanju na tip bakterije od strane antibakterijskih agenasa.

Sulfanilamid iz obitelji sulfonamida je prvi antibiotik sintetiziran u laboratoriju i postao je prvi antibiotik koji se propisuje za liječenje raznih bakterijskih infekcija. Nakon toga je krenula ubrzana sinteza mnogih analoga sulfanilamida i to prema sljedećim zaključcima: *para*-amino skupina je ključna za aktivnost antibiotika i ne smije biti supstituirana, aromatski prsten i sulfonamidna funkcionalna skupina trebaju biti dio strukture, aromatski prsten može biti samo *para*-supstituiran, sulfonamidni dušik može biti samo primarni ili sekundarni i razlikovati se mogu samo u R skupini koja je vezana na sulfonamidni dušik (Slika 12.).



Slika 12. Ključni izgled strukture sulfanilamida; samo R skupina može biti različita.

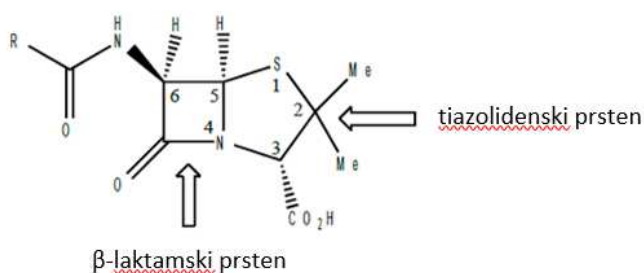
Primjer djelovanja antibiotika možemo vidjeti na sintezi tetrahidrofolata na slici niže. Prikazan je biokemijski put sinteze tetrahidrofolata, osnovnog enzimatskog ko-faktora koji je ključan u sintezi pirimidinskih baza (timina i citozina) u DNA.



Slika 13. Sinteza tetrahidrofolata uz upotrebu *para*-aminobenzojeve kiseline.

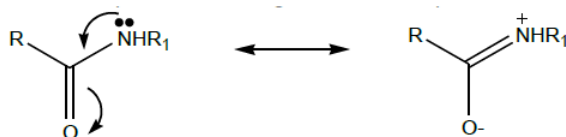
Obratimo pažnju na sličnosti među strukturama PABA-e (eng. *para*-Aminobenzoic acid) i sulfanilamida (Slika 12.). Antibiotik u ovom slučaju ometa sintezu na način da se na bakterijsku *Dihydropteroate synthetase*-u veže sulfonamid na njegovo aktivno mjesto i onemogućuje PABA-i da se veže. Time je inhibiran tijek sinteze i onemogućen nastanak Dihydropteroata, a time i konačnog produkta sinteze. Kada su bakterije prečesto u kontaktu sa sulfonamidima ili se nalaze u sredini u kojoj ima puno zaostalog antibiotika, one se krenu boriti protiv takvog stanja te krenu proizvoditi više PABA-e te su tako sklonije na aktivno mjesto enzima ipak vezati PABA-u nego antibiotik, a primarna doza antibiotika postaje premala za liječenje bolesti od interesa. Na taj način stječe se rezistencija bakterija na sulfonilamide.

Što se tiče strukture penicilina, molekule sadrže veoma napeti četveročlani β -laktamski prsten povezan na peteročlani tiazolidenski prsten (Slika 14.). β -laktamski prsten je nestabilan i primarno zaslužan za antibiotsku aktivnost tih molekula.



Slika 14. Struktura penicilina.

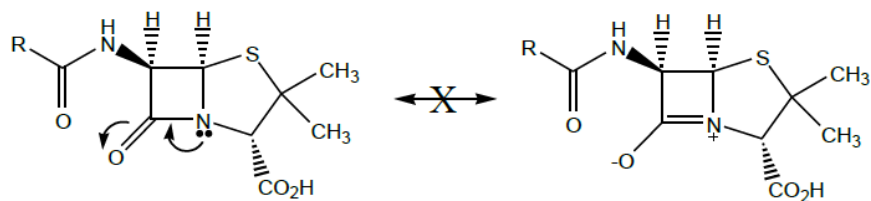
Kako bismo to dodatno razjasnili, prisjetit ćemo se prirode normalnih amida i njihove reaktivnosti. Ionski par atoma dušika preklapa se s karbonilnom skupinom što rezultira nastankom dvostruke veze između dušika i karbonilnog ugljika (Slika 15.). To rezonantno preklapanje između dušikovog ionskog para i karbonilnog sustava ima dvije posljedice.



Slika 15. U normalnim amidima, ionski par dušikovog atoma preklapa se s karbonilnim sustavom.

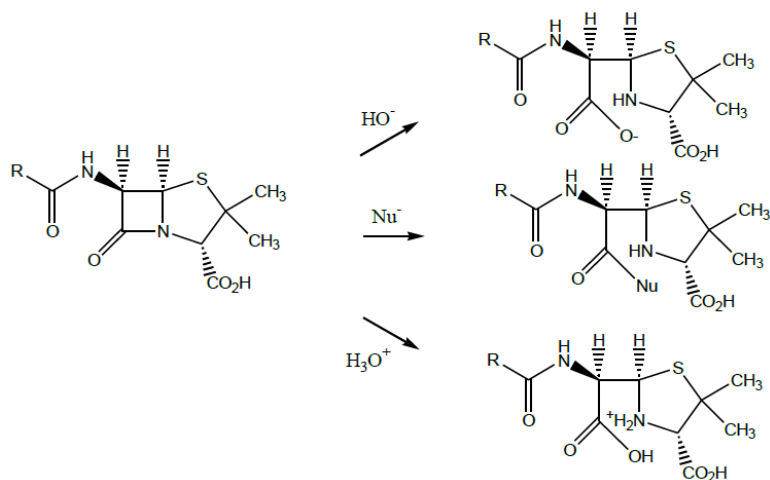
Prvo, na taj način ugljikov atom postaje manje elektrofilan, a time i manje osjetljiv na nukleofilni napad u usporedbi s aldehydima, ketonima i esterima. A drugo, takvo stanje amida čini atom ugljika nukleofilnim centrom cijele molekule.

Ako se vratimo na četveročlani β -laktamski prsten, kod njega su kutovi između veza 90° , umjesto 120° , kao što je to slučaj u standardnim amidima. Takav raspored atoma i veza u prostoru sprečava preklapanje ionskog para dušika sa susjednim atomom ugljika iz karbonilnog sustava te je zbog toga ugljik u prstenu elektrofilniji nego u normalnim amidima i zbog toga je sklon nukleofilnim napadima (Slika 16).



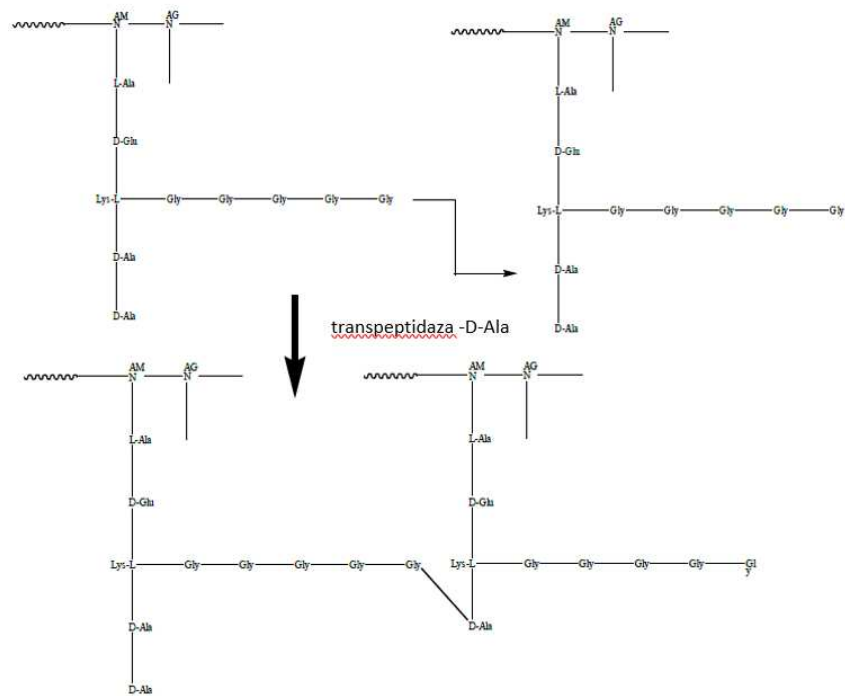
Slika 16. Napetost β -laktamskog prstena sprečava rezonancu između dviju struktura amida.

Ionski par dušika se lako protonizira u kiselim uvjetima, što β -laktamski prsten čini osjetljivim na jake kiseline. Tako možemo zaključiti da je prsten u penicilinima i cefalosporinima veoma sklon otvaranju pri jako kiselim i lužnatim uvjetima te u prisutnosti jakih nukleofila kao što je prikazano na Slici 17.



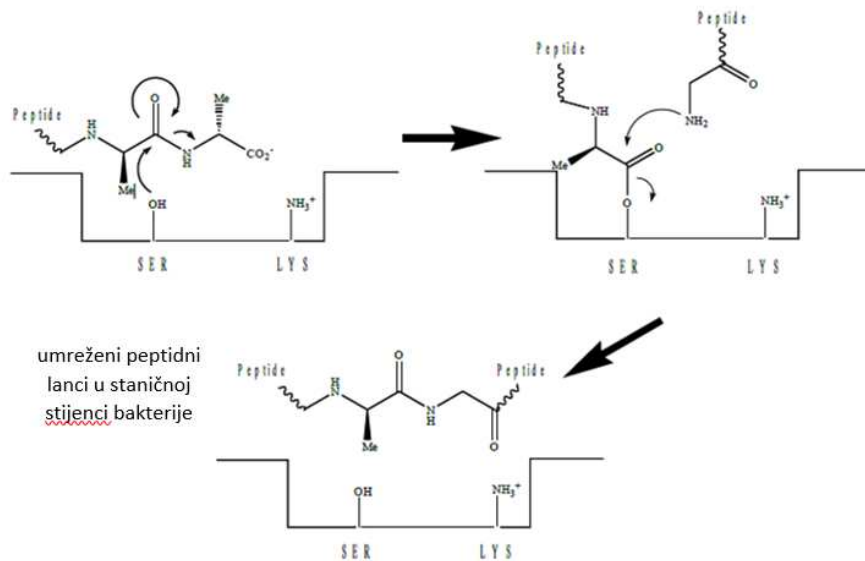
Slika 17. β -laktamski prsten se lako otvara u prisutnosti kiselina, lužina i jakih nukleofila.

Kako funkcioniraju β -laktamski antibiotici? Stanična stijenka bakterije sastavljena je od šećernih i peptidnih jedinica (koje se nazivaju peptidoglikani) povezanih u cjelinu na svojstven način. Točna struktura se sastoji od paralelnih serija šećerne okosnice na koje su vezani peptidi. Prisutna su dva različita šećera; N-acetilmuramička kiselina (NAM) i N-acetilglukozamin (NAG). Peptidni lanci su vezani samo na NAM šećere i sadrže aminokiseline D-stereokemije. Općenito aminokiseline u prirodi prevladavaju u L-stereokemiji, a izuzetak su upravo ove u peptidnim komponentama bakterijske stanične stijenke. Bakterija sadrži enzime racemaze koji mogu konvertirati L-amino u D-aminokiseline, a takva biokemijska sposobnost je prisutna još samo u puno kompliciranijim organizmima kao što su sisavci. Biosinteza stanične stijenke bakterije je gotova kada se peptidni lanci spoje na šećerni kostur i umreže se u cjelinu. Do toga dolazi kada se D-alanin na kraju jednog lanca poveže s glicinom iz drugog lanca kao što je prikazano na Slici 18.



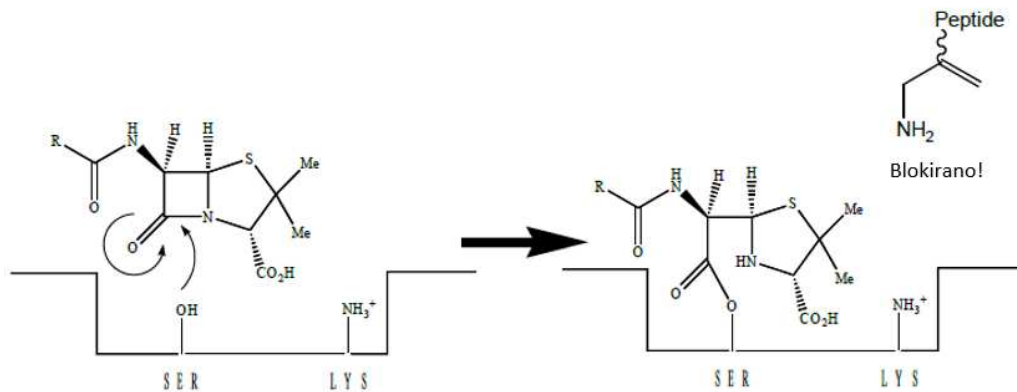
Slika 18. Bakterijski enzim transpeptidaza neophodan je za izgradnju stanične stijenke, povezivanjem peptidnih lanaca u cjelinu uz oslobađanje jednog D-alaninskog ostatka.

Enzim koji je zaslužan za takvo povezivanje zove se transpeptidaza, a točan mehanizam tog procesa prikazan je na Slici 19. Aktivirana hidroksilna skupina serina napada ugljik amidne veze između dva terminalna D-alaninska ostatka, što rezultira nukleofilnim pomakom jednog D-alanina i formiranjem peptidni lanac-enzim transpeptidaza kompleksa. Kompleks je povezan esterskom vezom koja je ubrzo zatim napadnuta od strane amino kraja pentaglicinskog lanca, prilikom čega se oslobađa enzim i završava povezivanje peptidnih lanaca.



Slika 19. Mehanizam povezivanja peptidnih lanaca prilikom sinteze bakterijske stanične stijenke, kataliziran transpeptidazom.

Penicilini imaju strukturalnu sličnost dvama povezanim D-alaninskim ostacima te ih enzim transpeptidaza lako zamijeni s D-Ala-D-Ala lancem pa se tako penicilini inkorporiraju na aktivno mjesto enzima. Jednom kada se povežu, β -laktamski ugljik napadnut je od strane hidroksilne skupine serina, dolazi do otvaranja prstena i penicilin ostaje kovalentno vezan na enzim. Glomazan tiazolidenski prsten sada blokira pristup pentaglicinskom lancu do aktivnog mjesta te tako penicilin ostaje trajno vezan na enzim transpeptidazu čime mu onemogućava da dalje odrađuje svoju funkciju (Slika 20.). To rezultira nastankom necjelovitih, poroznih i lomljivih staničnih stijenki, prije ili kasnije dolazi do izbočenja na stijenki bakterije, nakon toga nastaju lezije i konačno dolazi do uginuća bakterije.



Slika 20. Mehanizam inhibicije uz pomoć penicilina.

Pitanje je stoga, kako savladati problem rezistencije na peniciline. Otpornost na penicilin je postao problem još 1960. godine kada su se počele sve češće pojavljivati bakterije koje su bile otporne na peniciline i to zato jer su sadržavale enzim β -laktamazu. Taj enzim je deaktivirao lijek otvaranjem β -laktamskog prstena i penicilin nije više imao svoju početnu aktivnost ni ljekovitost. Na sreću, naknadno je otkriveno da derivati penicilina koji imaju glomazne supstituente na bočnim lancima i dalje imaju svoju funkciju i otporni su na enzim β -laktamazu iz rezistentnih bakterija.

8. ZAKLJUČAK

Veliki problem pojave zaostalih antibiotika te otpornost na antibiotike predstavlja kompleksan fenomen koji zahtjeva uključivanje globalnih vlasti, bitnih organizacija i drugih odgovornih tijela. Zagađenje okoliša antibioticima trebala bi se svesti na minimum počevši od regulacije konzumacije antibiotika do propisanih smjernica u sklopu Procjene rizika (ERA).

Povećano korištenje antibiotika je direktno povezano sa zagađenjem okoliša antibioticima. Javlja se sve veća potreba za definiranim politikama upotrebe i praćenje ispuštanja antibiotika u okoliš te potreba za jačanje svjesnosti ljudi oko činjenice koliko kriva upotreba antibiotika narušava ravnotežu ekosustava i ljudsko zdravlje. Iz tog razloga, da bi se smanjila upotreba antibiotika i ispuštanje antibiotika u prirodu, zakonodavne mjere bi trebale obratiti pažnju na dijelove okoliša koji su pod visokim rizikom u kojima je zamijećena visoka koncentracija zaostalih antibiotika, kao što su otpadne vode bolnica ili oko farmaceutskih industrija. Udruženje znanstvenika predložilo je da se definiraju limitirane vrijednosti koncentracija antibiotika u okolišu kao mjera zaštite okoliša i ljudskog zdravlja. Sve navedeno trebalo bi se detaljno obrazložiti i obuhvatiti u sklopu dokumentacije Procjene rizika za pojedinu supstancu.

Pojava antibiotika u prirodi direktno je povezana s kemijskim i farmakokinetičkim svojstvima, ali i s dinamikom mikrobioloških zajednica u okolišu. Kombinacija jednog i drugog može dovesti do mutacija bakterija i njihove otpornosti na antibiotike. Iz tog razloga je bitno istaknuti odnos prisutnosti antibiotika u okolišu i njihov utjecaj na ekosistem te bi zato od velike važnosti bila detekcija i kvantifikacija antibiotika zaostalih u prirodi, kako i komponenata s potencijalnom biološkom aktivnošću, što bi pak ujedno omogućilo stvaranje znanstvene baze. Dosadašnja istraživanja ukazuju na nužnu potrebu za praćenjem i razumijevanjem sudbine antibiotika u okolišu.

Koristi i potreba za upotrebom antibiotika ne može se ignorirati, ali se utjecaj antibiotika na okoliš treba uzeti u obzir i poduzeti sve moguće mjere da se zaštiti ekosistem, ali i ljudsko zdravlje, i sve to na vrijeme, kako bi se izbjegle kasnije nepovratne posljedice.

9. LITERATURA:

1. Svetlana Iuliana Polianciuc, Anca Elena Gurzău, Bela Kiss, Maria Georgia Ștefan, Felicia Loghin; *Antibiotics in the environment: causes and consequences*, Medicine and Pharmacy reports Vol.93, No.3, 2020: 231-240.
2. Isabel T. Carvalho, Lúcia Santos; *Environmen Interantional*, Vol.94, 2016., 736-757.
3. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. *Global trends in antimicrobial use in food animals*; Proc Natl Acad Sci U S A, 2015; 112:5649–5654.
4. Du L, Liu W. *Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems*. A review. Agron Sustain Dev. 2012;32:309–327.
5. Andersson DI, Hughes D. *Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics*, Nat Rev Microbiol. 2014;12(7):465–478.
6. Wohde M, Berkner S, Junker T, Konradi S, Schwarz L, Düring RA. *Occurrence and transformation of veterinary pharmaceuticals and biocides in manure: a literature review*. Environ Sci Eur. 2016;28:23.
7. Jechalke S, Heuer H, Siemens J, Amelung W, Smalla K. *Fate and effects of veterinary antibiotics in soil*. Trends Microbiol. 2017;22:536–545.
8. Kuppusamy S, Kakarla D, Venkateswarlu K, Megharaj M, Yoon YE, Lee YB. *Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view*. Agric Ecosyst Environ. 2018;257:47–59.
9. Jayalakshmi K, Paramasivam M, Sasikala M, Tamilam T, Sumithra A. *Review on antibiotic residues in animal products and its impact on environments and human health*. J Entomol Zool Stud JEZS. 2017;5:1446–1451.
10. Wang M, Shen W, Yan L, Wang XH, Xu H. *Stepwise impact of urban wastewater treatment on the bacterial community structure, antibiotic contents, and prevalence of antimicrobial resistance*. Environ Pollut. 2017;231(Pt 2):1578–1585.
11. Chee-Sanford JC, Krapac IJ, Yannarell AC, Mackie RI. *Environmental Impacts of Antibiotic Use in the Animal Production Industry*. Ecol Anim Heal Ecosyst Heal Sustain Agric 2. 2012;228–368.
12. Wang X, Ryu D, Houtkooper RH, Auwerx J. *Antibiotic use and abuse: A threat to mitochondria and chloroplasts with impact on research, health, and environment*. Bioessays. 2015;37:1045–1053.
13. Minden V, Deloy A, Volkert AM, Leonhardt SD, Pufal G. *Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations*. AoB Plants. 2017;9:plx010.
14. Toma Galaon, Alina Banciu, Florentina Laura Chiriac, Mihai Nita-Lazar; *Biodegradation od antibiotic: the balance between good and bad*, Romanian Journal of Ecology & Environmental Chemistry, No. 1., 2019.
15. Ben Y, Fu C, Hu M, Liu L, Wong MH, Hung M, et al. *Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review*. Environ Res. 2019;169:483–493.

16. World Health Organisation. *Monitoring global progress on addressing antimicrobial resistance: analysis report of the second round of results of AMR country self-assessment survey 2018*. WHO, 2018. pp. 1–59.
17. Klein EY, Van Boeckel TP, Martinez EM, Pant S, Gandra S, Levin SA, et al. *Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015*. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:E3463–E3470.
18. Bengtsson-Palme J, Larsson DG. *Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation*. *Environ Int*. 2016;86:140–149.
19. Larsson DGJ. *Pollution from drug manufacturing: review and perspectives*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2014;369:20130571.
20. Bielen A, Šimatović A, Kosić-Vukšić J, Senta I, Ahel M, Babić S, et al. *Negative environmental impacts of antibiotic-contaminated effluents from pharmaceutical industries*. *Water Res*. 2017;126:79–87.
21. Executive Agency for Health and Consumers. *Study on the environmental risks of medicinal products. Final Report. 2013*. Available from: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/environment/study_environment.pdf.
22. European Commission. *Updated-surface-water-watch-list-adopted-commission*. Available from: <https://ec.europa.eu/jrc/en/science-update/updated-surface-water-watch-list-adopted-commission>.
23. Muhammad Ashfaq, Muhammad Zaffar Hashmi, Arooj Mumtaz, Deeba Javed, Noor Ul Ain, Sana Shifaqat, Muhammad Saif Ur Rehman, *Antibiotic and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment: Chapter 21: Environmental risk assessment of antibiotics and AMR/ARGs*, Advanced in Environmental Pollution Research Series, Elsevier, Vol 1, 331-349.
24. German Environment Agency, *Antibiotics and Antibiotic Resistances in the Environment; Background, Challenges and Options for Action*, Umwelt Bundesamt, Background, 10.2018, Available from: https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/479/publikationen/181101_uba_hg_antibiotika_engl_bf_low.pdf
25. B. Balabanova, *Antibiotic and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment: Chapter 8: Antibiotics and antimicrobial resistance mechanism of entry in the environment*, Advanced in Environmental Pollution Research Series, Elsevier, Vol 1, 126-137.
26. *Antibiotics, Antibiotic resistance and environment*, Encyclopedia of the Environment, Available from: <https://www.encyclopedie-environnement.org/en/health/antibiotics-antibiotic-resistance-and-environment/>
27. Coman C. *Antibiotic resistance: not only the clinician's problem*. *Danube News*. 2016;18:34:2–5.
28. St George's university of London, *Tackling the challenge of antimicrobial resistance in children and babies*, Available from: <https://www.sgul.ac.uk/research/our-impact/transformation-stories/tackling-the-challenge-of-antimicrobial-resistance-in-children-and-babies>.
29. Haley Sanderson, Colin Fricker, R. Stephen Brown, Anna Majury, and Steven N. Liss; *Antibiotic resistance genes as an emerging environmental contaminant*, NRC Research press, *Environ. Rev.* 24, 2016, 205–218.

30. Muhammad Arshad, Rabeea Zafar, *Antibiotic and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment: Chapter 9:Antibiotics, AMRs and ARGs: fate in the environment*, Advanced in Environmental Pollution Research Series, Elsevier, Vol 1, 138-154.
31. Liliana Serwecinska, *Antimicrobials and Antibiotic-Resistant Bacteria: A Risk to the Environment and to Public Health*, European Regional Centre for Ecohydrology of the Polish Academy of Sciences, 2020.
32. Aga DS, Lenczewski M, Snow D, Muurinen J, Sallach JB, Wallace JS. *Challenges in the Measurement of Antibiotics and in Evaluating Their Impacts in Agroecosystems: A Critical Review*. J Environ Qual. 2016;45:407–419.
33. Schlüsener MP, Bester K. *Persistence of antibiotics such as macrolides, tiamulin and salinomycin in soil*. Environ Pollut. 2006;143:565–571.
34. Hu D, Coats JR. *Laboratory evaluation of mobility and sorption for the veterinary antibiotic, tylosin, in agricultural soils*. J Environ Monit. 2009;11:1634–1638.
35. Voigt M, Jaeger M. *On the photodegradation of azithromycin, erythromycin and tylosin and their transformation products – A kinetic study*. Sustain Chem Pharm. 2017;5:131–140.
36. Frade VMF, Dias M, Teixeira ACSC, Palma MSA. *Environmental contamination by fluoroquinolones*. Brazilian J Pharm Sci. 2014;50:41–54.
37. Hartmann A, Golet EM, Gartiser S, Alder AC, Koller T, Widmer RM. *Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital wastewaters*. Arch Environ Contam Toxicol. 1999;36:115–119.
38. Li B, Zhang T. *Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process*. Environ Sci Technol. 2010;44:3468–3473.
39. Grossi Botelho R, Monteiro SH, Tornisielo VL. *Chapter 5- Veterinary antibiotics in the environment*. In: *Emerging Pollutants in the Environment - Current and Further Implications*. IntechOpen; 2012. pp. 135–152.
40. Marx C, Mühlbauer V, Krebs P, Kuehn V. *Environmental risk assessment of antibiotics including synergistic and antagonistic combination effects*. Sci Total Environ. 2015;524–525:269–279.
41. Ågerstrand M, Berg C, Björlenius B, Breitholtz M, Brunström B, Fick J, et al. *Improving environmental risk assessment of human pharmaceuticals*. Environ Sci Technol. 2015;49:5336–5345.
42. Le Page G, Gunnarsson L, Snape J, Tyler CR. *Integrating human and environmental health in antibiotic risk assessment: A critical analysis of protection goals, species sensitivity and antimicrobial resistance*. Environ Int. 2017;109:155–169.
43. Yujie Ben, Caixia Fu, M. Hu, L. Liu, M. Wong, C. Zheng; *Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review*, Environmental research, 2019.
44. Andleeb S., Majid M., Sardar S., *Antibiotic and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment: Chapter 18:Environmental and public health effects of antibiotics and AMR/ARGs*, Advanced in Environmental Pollution Research Series, Elsevier, Vol 1, 269-291.
45. *The Medicinal Chemistry of Antibiotics*, Available from: <http://www.hampsteadscience.ac.uk/TheMedicinalChemistryofAntibiotics.pdf>