

GUT MICROBIOME AND BACTERIAL RESISTANCE TO
ANTIBIOTICS: RESERVOIR OR DEFENCE?CREVNI MIKROBIOM I REZISTENCIJA BAKTERIJA NA
ANTIBIOTIKE: REZERVOAR ILI ODBRANA?Dragana Vuković¹¹ Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za Mikrobiologiju, Beograd, Srbija**Correspondence:** dragana.vukovic@med.bg.ac.rs

Abstract

Antibiotics have fundamentally transformed modern medicine, however, their widespread use and misuse have led to the escalating crisis of antimicrobial resistance (AMR) in bacteria. Today, bacterial AMR represents a critical global health threat with severe medical and economic consequences. It is estimated that nearly five million deaths worldwide are linked to bacterial AMR each year.

While vital for maintaining host health, the human gut microbiome also harbors a collection of antibiotic resistance genes (ARGs), collectively known as the gut resistome. Numerous studies have shown that the gut resistome serves as a reservoir for ARGs, which can be mobilized and transferred to both commensal and pathogenic bacteria through horizontal gene transfer. Antibiotic exposure is a major factor that disrupts the diversity and function of the gut microbiome, leading to the proliferation of resistant bacteria and the accumulation of ARGs. These changes, in turn, facilitate the further spread of resistance among bacterial populations.

Conversely, one of the gut microbiome's key functions is to prevent the colonization and proliferation of both external pathogens and resident pathobionts, including bacteria resistant to antibiotics. This protection is mediated through mechanisms such as resource competition, metabolic interactions, and modulation of the host immune response. By limiting the colonization and expansion of resistant bacteria, the gut microbiome helps reduce the incidence of related infections and may contribute to lowering the overall burden of AMR.

This review explores the dual role of gut microbiome in the dynamics of bacterial AMR, both as a reservoir for the emergence of AMR and a critical line of defense against its spread. The review also highlights key research gaps that need to be addressed to promote the development of targeted microbiome-based strategies for combating bacterial AMR effectively.

Keywords:

bacteria,
antibiotics,
antimicrobial resistance,
gut microbiome,
resistome

Sažetak

Antibiotici su fundamentalno transformisali modernu medicinu, ali je njihova ekstenzivna i nenamenska upotreba dovela do eskalacije problema antimikrobne rezistencije (AMR) bakterija. Rezistencija bakterija na antibiotike je udružena sa ozbiljnim medicinskim i ekonomskim posledicama i danas predstavlja jednu od vodećih pretnji globalnom zdravlju. Procenjuje se da je globalno na godišnjem nivou smrt približno pet miliona ljudi u vezi sa AMR bakterija.

U sastavu crevnog mikrobioma, koji je od esencijalnog značaja za zdravlje ljudi, nalazi se i kolekcija gena rezistencije na antibiotike (engl. *antibiotic resistance genes* - ARGs), označena kao crevni rezistom. Veliki broj studija pokazao je da crevni rezistom ima ulogu rezervoara ARGs, koji se mogu mobilisati i preneti horizontalnim transferom kako komensalima, tako i patogenima. Smatra se da je ekspozicija antibiotiku ključni faktor koji dovodi do narušavanja diverziteta i funkcije mikrobioma, što omogućava proliferaciju rezistentnih bakterija i akumulaciju ARGs. Na ovaj način crevni rezistom doprinosi kreiranju uslova za dalje širenje rezistencije među populacijama bakterija.

Nasuprot tome, jedna od osnovnih funkcija crevnog mikrobioma jeste sprečavanje kolonizacije egzogenih patogena i proliferacije patobionata, uključujući i bakterije rezistentne na antibiotike. Ova odbrambena funkcija mikrobioma zasnovana je na mehanizmima kao što su kompeticija za resurse, metaboličke interakcije i modulacija imunskog odgovora domaćina. Crevni mikrobiom ovakvim ograničavanjem kolonizacije i ekspanzije rezistentnih bakterija može uticati na pad učestalosti infekcija izazvanih ovim bakterijama i doprineti smanjenju ukupnog opterećenja AMR.

Cilj rada je da razmotri ovu dvostruku ulogu crevnog mikrobioma, koji istovremeno ima potencijal i pretećeg rezervoara AMR i značajne linije odbrane od bakterija rezistentnih na antibiotike. Takođe, rad ističe i nepoznanice koje zahtevaju dalja istraživanja, kako bi se omogućio razvoj strategija modulacije mikrobioma efektivnih u borbi protiv AMR bakterija.

Ključne reči:

bakterije,
antibiotici,
antimikrobna rezistencija,
crevni mikrobiom,
rezistom

Uvod

Antimikrobna rezistencija (AMR) podrazumeva razvoj i prisustvo otpornosti mikroorganizama na antimikrobne lekove koji se koriste u prevenciji i lečenju infektivnih bolesti ljudi, životinja i biljaka, ali je nedvosmisleno težište ovog problema rezistencija bakterija na antibiotike, tj. AMR bakterija (1, 2). Iako je u okviru pristupa „jedno zdravlje“ jasno prepoznato da AMR pogađa i zdravlje životinja, biljaka, kao i okruženje (2), fokus ovog rada je medicinska dimenzija problema AMR bakterija.

Prema aktuelnim procenama, rezistencija bakterija na antibiotike je dostigla alarmantne razmere i na globalnom nivou se nastavlja zabrinjavajući trend porasta (1-3). S obzirom na brojne i dalekosežne negativne efekte AMR bakterija na globalno javno zdravlje, ali i na zdravstvene sisteme, kao i ekonomski razvoj i stabilnost (1, 2, 4), jasno je da je u pitanju jedan od najurgentnijih problema sa kojim se suočavamo u medicini danas.

S druge strane, humani mikrobiom, a pre svega crevni mikrobiom, tokom poslednje dve decenije otkriven je i prepoznat kao mogući presudan činiac u zdravlju i bolesti ljudi (5, 6). U tom smislu, potencijalni efekti mikrobioma su takođe brojni i dalekosežni, ali su još uvek velikim delom predmet hipoteza sa nedovoljno jasnim uzročno posledničnim odnosima u kliničkom kontekstu (7, 8). Imajući u vidu zastupljenost i diverzitet bakterijske komponente u sastavu crevnog mikrobioma, neizbežni su pretpostavka i potraga za različitim vidovima njegove povezanosti sa

rezistencijom bakterija na antibiotike. Rezistom creva, tj. kolekcija gena rezistencije na antibiotike (engl. *antibiotic resistance genes* - ARGs) u sastavu mikrobioma creva, prepoznat je kao mogući značajan faktor u nastanku, razvoju i širenju klinički relevantne AMR bakterija (9). Nasuprot takvoj potencijalnoj ulozi u smislu direktne augmentacije problema AMR bakterija, mikrobiom creva ima i potencijal da se suprotstavi bakterijama rezistentnim na antibiotike, onemogućujući kolonizaciju i spreči infekcije izazvane ovim bakterijama (10). Stoga je cilj ovog rada da kroz pregled izabranih istraživanja razmotri ključne modalitete uloge crevnog mikrobioma u kontekstu AMR bakterija, kao jednog od vodećih problema moderne medicine.

Rezistencija bakterija na antibiotike kao pretnja globalnom zdravlju

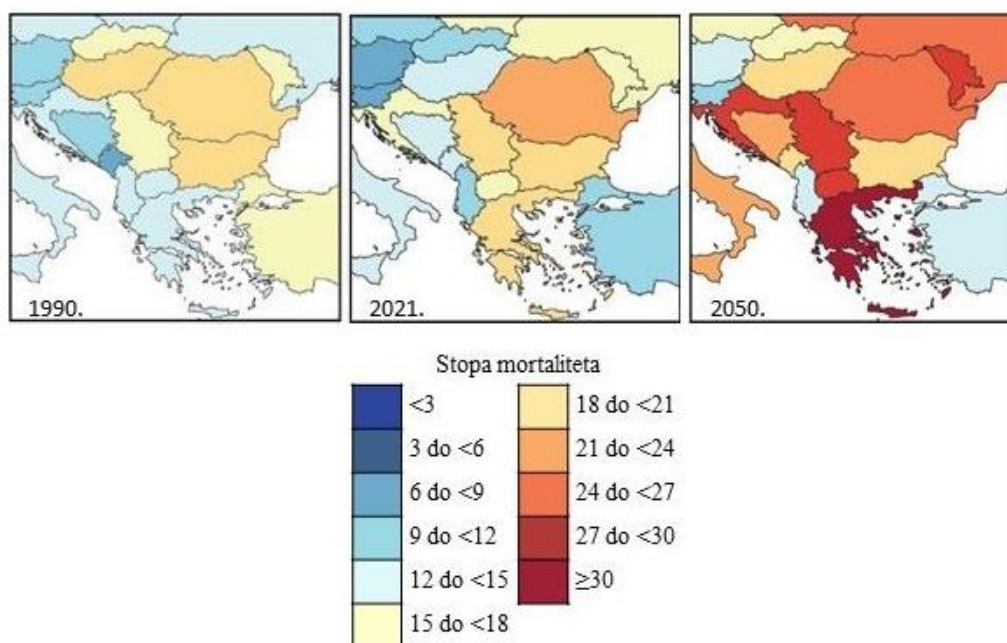
Usled delimičnog ili potpunog izostanka kliničke efektivnosti antibiotika, AMR bakterija je značajno udružena sa porastom morbiditeta i mortaliteta na globalnom nivou, produženim trajanjem hospitalizacije, povećanim rizikom rekurentnih infekcija i posledničnim povećanjem troškova lečenja (1, 2, 4). Mortalitet u vezi sa AMR bakterijom je svakako jedan od najočiglednijih pokazatelja ozbiljnosti situacije u kojoj se nalazimo. Tako je skoro objavljena sveobuhvatna i metodološki utemeljena procena globalnog opterećenja AMR bakterija ustanovila da je upravo rezistencija bakterija na antibiotike jedan od vodećih

uzroka smrti na globalnom nivou (11). Tokom 2019. godine bilo je čak 4,95 miliona smrtnih slučajeva udruženih sa ovim vidom AMR, od kojih je 1,27 miliona bilo u direktnoj vezi sa rezistencijom bakterija na antibiotike. U ovoj studiji su kao vodeći patogeni odgovorni za smrtnu ishodu udružene sa rezistencijom izdvojene sledeće vrste bakterija: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa*. Ovi rezultati u potpunosti odgovaraju Listi prioritetnih bakterijskih patogena, koju je Svetska zdravstvena organizacija (SZO) objavila 2024. godine sa ciljem usmeravanja istraživanja, razvoja i strategija za prevenciju i kontrolu AMR bakterija (12). U Listi su bakterijski patogeni klasifikovani u kategorije kritičnog, visokog i srednjeg prioriteta. Svih šest navedenih patogena koji su značajno udruženi sa mortalitetom u vezi sa rezistencijom na antibiotike (13) uključeni su u Listu, pri čemu su upravo enterobakterije, kao *E. coli* i *K. pneumoniae*, rezistentne na cefalosporine treće generacije i karbapeneme, kao i *A. baumannii*, rezistentan na karbapeneme, prepoznati kao kritični bakterijski patogeni (12).

Nastavak sistematskih istraživanja poput ovog za 2019. godinu (11), ali sada sa fokusom na istoriju opterećenja AMR bakterija tokom perioda 1990 - 2021. godina i predviđanje do 2050. godine nije doneo ohrabrujuće rezultate (13). Iako u senci pandemije oboljenja COVID-19, nivoi mortaliteta u vezi sa AMR bakterija tokom 2021. godine ostaju slični onima zabeleženim 2019. godine, a predikcije za 2050. godinu su čak 8,22 i 1,91 milion smrti u vezi sa, tj. usled AMR bakterija. Tokom perioda od 31 godine ustanovljena je varijabilnost u trendovima mortaliteta u vezi sa AMR bakterija, u zavisnosti od geografske lokacije i uzrasta. Kada je u pitanju situacija u Srbiji, pokazan je porast mortaliteta u vezi sa AMR bakterija u periodu 1990 - 2021. godina, sa izrazito nepovoljnom predikcijom za 2050. godinu (**slika 1**).

Prikazani rezultati dve studije, koje su izabrane zbog svoje aktuelnosti i reprezentativnosti, jasno ilustruju neposredne negativne efekte AMR bakterija na individualno i globalno zdravlje i u skladu su sa rezultatima različitih programa i drugih studija praćenja ovog problema na nacionalnom, regionalnom i globalnom nivou (3,14-16). Kada se u obzir uzmu i nepovoljni ekonomski efekti AMR bakterija, dodatna otežavajuća okolnost je da su, u okviru globalne distribucije opterećenja AMR bakterija, najviše pogođene zemlje sa niskim i srednjim dohotkom (1-4,11,15).

Koreni opisane krize, koja nas u 21. veku dovodi do ivice postantibiotske ere, složeni su i brojni. Rezistencija bakterija na antibiotike je prirodan fenomen i deo je egzistencijalne strategije bakterija i njihove neverovatne adaptabilnosti (17). Međutim, selektivni pritisak usled preterane, neopravdane i pogrešne upotrebe antibiotika u medicini, veterini i poljoprivredi doveo je do amplifikacije ovog prirodnog fenomena, koji je danas dostigao neslučajne razmere (3,17,18). Mi smo praktično primorali bakterije da brzo reaguju kontinuiranim razvojem i širenjem novih mehanizama rezistencije kako bi opstale u različitim okruženjima u kojima su izložene antibioticima, pri čemu je naš odgovor u smislu dinamike razvoja novih antibiotika i posebno novih klasa antibiotika u potpunosti neadekvatan. Brojni su razlozi nepovoljne situacije u oblasti razvoja novih antibiotika, ali je ključna reč u ovom kontekstu profit. Priroda kliničke upotrebe antibiotika dovodi u pitanje njihovu profitabilnost jer je proces pretkliničkog i kliničkog razvoja novog antibiotika veoma zahtevan i skup, a komercijalizacija proizvoda neizvesna i često neuspešna (19,20). Nasuprot neizvesnom profitu stoje procenjeni globalni troškovi usled AMR bakterija, koji se izražavaju u stotinama milijardi, pa čak i u bilionima dolara. Upravo je objavljena studija koja preciznom metodologijom procenjuje globalni iznos samo bolničkih troškova usled AMR



Slika 1. Procena stopa mortaliteta na 100.000 u vezi sa antimikrobnom rezistencijom bakterija na Balkanskom poluostrvu za 1990, 2021. i 2050. godinu. Adaptirano iz *Naghavi et al. (13)* pod CC-BY 04 licencom

bakterija na 693 milijarde dolara godišnje, pri čemu su dve „najskuplje“ rezistentne bakterije *E. coli* i *S. aureus*, sa procenjenim globalnim troškovima od 246, odnosno 135 milijardi dolara (21).

Direktno preklapanje problema AMR bakterija i crevnog mikrobioma ogleda se u činjenici da se većina vodećih klinički relevantnih bakterija rezistentnih na antibiotike, stalno ili povremeno, nalazi u sastavu upravo ovog dela humanog mikrobioma. Primer su dve prethodno navedene „najskuplje“ rezistentne bakterije, svi kritični patogeni u Listi prioritarnih bakterijskih patogena SZO, tj. oportunističke vrste reda *Enterobacterales* i *A. baumannii*, kao i vrste *P. aeruginosa* i *Enterococcus faecium* klasifikovane kao rezistentni patogeni visokog prioriteta (12). Sve navedene bakterije su prototipovi oportunističkih patogena koji imaju potreban arsenal faktora virulencije, a ključna startna pozicija je upravo tranzicija iz statusa kolonizujućih organizama u sastavu našeg mikrobioma u status izazivača infekcija (22).

Crevni mikrobiom kao rezervoar gena rezistencije na antibiotike

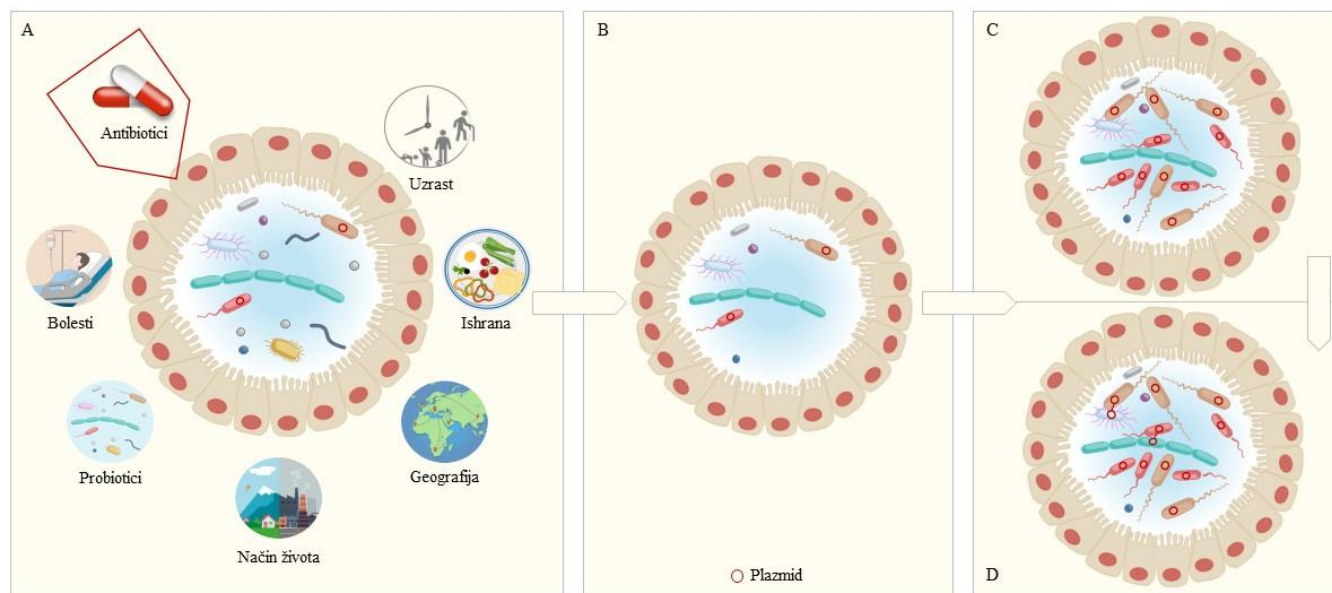
Prisustvo ARGs je dokazano u crevnom mikrobiomu u velikom broju studija (23-26), tako da je u tom smislu status crevnog mikrobioma, odnosno crevnog rezistoma kao potencijalnog rezervoara gena rezistencije neupitan. Sastav rezistoma creva pokazuje visoku interindividualnu varijabilnost, a menja se pod uticajem brojnih faktora koji deluju istovremeno i međusobno povezano. Faktori koji moguće imaju uticaj na sastav rezistoma creva su, očekivano, faktori koji su inače prepoznati kao moguće značajni za crevni mikrobiom u celini, kao što su uzrast (25), ishrana (27), geografija i putovanja (26,28), oboljenja infektivne i neinfektivne etiologije (29), uzimanje probiotika (30) i drugi (slika 2A). Smatra se da je ekspozicija antibioticima jedan od ključnih faktora jer dovodi do disbioze, tj. do strukturnih i funkcionalnih izmena u mikrobiomu koje omogućavaju proliferaciju bakterija rezistentnih na antibiotike, akumulaciju ARGs i ekspanziju rezistoma (9,24,31,32). Važna komponenta istraživanja crevnog rezistoma je i dokazivanje funkcije prisutnih ARGs u smislu fenotipske ekspresije rezistencije (24,26,32). Jedan od najčešće korišćenih metodoloških pristupa u ovakvim istraživanjima je funkcionalna metagenomika, koja podrazumeva kloniranje fragmenata fekalne metagenomske DNK u ekspresioni vektor koji se zatim transformacijom unosi u genom heterologne bakterije, najčešće *E. coli*. Kultivisanjem transformisanih *E. coli* na podlogama sa odgovarajućim antibioticima ili kombinacijama antibiotika omogućava se identifikacija ARGs, uključujući i detekciju novih ARGs kroz analizu nivoa i obrazaca fenotipske rezistencije (33).

Dokaz samo prisustva i funkcije ARGs nije dovoljan za potvrdu moguće uloge crevnog rezistoma u amplifikaciji problema AMR bakterija. Potrebno je razumevanje dinamike i zakonitosti diseminacije ARGs u okviru mikrobioma, kao i između mikrobioma i patogena. Održavanje i

diseminacija gena rezistencije bakterija na antibiotike odvijaju se vertikalnim prenosom iz generacije u generaciju i horizontalnim transferom (engl. *horizontal gene transfer* - HGT) posredovanim mobilnim genetičkim elementima (engl. *mobile genetic elements* - MGEs). S obzirom na to da upravo horizontalni transfer ARGs ima presudnu ulogu u infektivnom širenju AMR bakterija, istraživanja rezistoma obuhvataju i otkrivanje asocijacije između ARGs i konkretnih MGEs, čime se ostvaruje uvid u vidove i nivo mobilnosti ovih gena između bakterija (9,34-36). Tako su, na primer, nedavno objavljeni rezultati ekstenzivne karakterizacije MGEs koji omogućavaju HGT pokazali čitavu mrežu za diseminaciju ARGs komensala crevnog mikrobioma (35). Transfer ARGs praćen je između 1354 kultivisane soja 540 vrsta komensala i 45.403 soja 12 vrsta patogena, tako da je važan doprinos ove studije eksperimentalna validacija mobilnosti MGEs na nivou izolata bakterija. Vrste patogena su izabrane iz kategorija vodećih izazivača infekcija gastrointestinalnog trakta i vodećih nosilaca AMR. Dokazano je 64.188 transfera ARGs posredovanih MGEs, što čini čak 16,5% svih detektovanih gena prenetih horizontalnim transferom. Rezultati poput ovog su jasna potvrda da je crevni mikrobiom ne samo potencijalni već i funkcionalni rezervoar ARGs za patogene.

Osnovni pretpostavljeni scenario uloge mikrobioma creva u širenju rezistencije bakterija podrazumeva da terapija antibioticima, kao ključni faktor uticaja (slika 2A), dovodi do disbioze, tj. do narušavanja taksonomske strukture i izbalansiranih funkcija mikrobioma. Održavaju se rezidentni i tranzitorni članovi mikrobioma koji imaju genetičke determinante rezistencije na dati antibiotik, a u izmenjenom mikrobiomu kreiraju se niše za njihovu proliferaciju (slika 2B). Na taj način, selektivni pritisak izlaganja antibiotiku dovodi do akumulacije ARGs i ekspanzije rezistoma (slika 2C), usled čega raste mogućnost daljeg horizontalnog prenosa ARGs na druge bakterije, uključujući i patogene (slika 2D) (9,24,32,34-36).

Rezultati većine studija o efektima antibiotika na crevni rezistom podržavaju prikazani scenario uloge mikrobioma creva u širenju rezistencije bakterija (9,24,32,34-36), uključujući i upravo objavljene rezultate istraživanja u reprezentativnoj kohorti od 7095 odraslih osoba, koji su nedvosmisleno pokazali uticaj terapije antibioticima na selekciju i širenje gena rezistencije u okviru rezistoma (37). Ipak, ima i malobrojnih oprečnih rezultata istraživanja, kao što je, na primer, izostanak promena u obimu i sastavu rezistoma nakon ekspozicije određenim beta laktamima u studijskoj polupaciji koja je obuhvatila 63 učesnika (38). Bez obzira na brojna istraživanja, mi još uvek ne znamo dovoljno o faktorima koji određuju prirodu, obim i trajanje efekata antibiotika na crevni mikrobiom, odnosno rezistom. Kada su u pitanju kratkoročni efekti antibiotika, ilustrativna je upravo objavljena BALANS studija, koja je imala za cilj proveru hipoteze da kraća 7-dnevna antibiotska terapija bakteremije u manjoj meri menja crevni mikrobiom i rezistom u poređenju sa dužom, 14-dnevnom, pri čemu oba režima imaju jednaku kliničku efektivnost (39). Međutim, sekvenciranjem metagenoma rektalnih



Slika 2. Uloga mikrobioma creva u širenju rezistencije bakterija na antibiotike

A - ekspozicija crevnog mikrobioma antibiotiku, kao ključnom faktoru uticaja; B - izmenjen sastav i diverzitet mikrobioma uz održavanje rezistentnih bakterija; C - proliferacija rezistentnih bakterija i akumulacija gena rezistencije u bakterijskom hromozomu i na mobilnim genetičkim elementima (plazmidi); D - ekspanzija rezistoma creva i ekstenzivna mobilizacija gena rezistencije povećavaju mogućnost horizontalnog transfera gena rezistencije

briseva utvrđeno je da nije bilo značajne razlike u ukupnom sadržaju ARGs, kao ni u prisustvu pojedinačnih ARGs između rezistoma pacijenata lečenih 7 i 14 dana. Moguće objašnjenje dobijenih rezultata je da zapravo ključne promene u mikrobiomu i rezistomu nastaju odmah nakon početka terapije antibioticima, a da dodatni dani terapije ne dovode do daljih promena. Brze reaktivne promene u mikrobiomu i rezistomu pokazane su i u ranije objavljenim studijama, kao što je ispitivanje efekata jednodnevnog terapije amoksicilinom sa klavulanskom kiselinom (40). Uzorci fecesa su uzimani pre početka lečenja, neposredno po završetku i još dva puta u razmaku od po nedelju dana. Odmah nakon završetka terapije ustanovljena je ekspanzija rezistoma, pre svega u smislu porasta ARGs odgovornih za rezistenciju na beta laktame i aminoglikozide, ali su promene bile kratkotrajne i konstatovana je reverzija u prvobitno stanje već nedelju dana posle terapije (40). Kada su ispitivani dugoročni efekti dugotrajne terapije istim antibiotikom, dobijeni su potpuno različiti rezultati (41). Uzorci stolice uzimani su pre početka terapije, nakon završetka tri meseca terapije i devet meseci nakon završetka lečenja amoksicilinom. Detektovane su značajne promene u sastavu, diverzitetu i funkcijama crevnog mikrobioma nakon tri meseca lečenja, ali ne i devet meseci posle završetka tretmana. Za razliku od relativno kratkoročnih efekata amoksicilina na ukupan crevni mikrobiom, efekti na rezistom u smislu značajnog porasta i u broju i u diverzitetu ARGs bili su prisutni i devet meseci nakon završetka lečenja. Posebno je bio naglašen porast ARGs odgovornih za rezistenciju na beta laktame, kao odgovor na specifičan selektivni pritisak usled ekspozicije amoksicilinu. Primer je trostruko povećana zastupljenost varijanti *cfxA* gena za CfxA beta laktamaze, koja je registrovana konzistentno u vremenskim tačkama tri i devet meseci (41).

Sumarni nalaz navedenih i sličnih studija koje prate efekte antibiotika na rezistom je da naše razumevanje ovih efekata i, posebno, efekata na evoluciju rezistencije u okviru mikrobioma još uvek nije potpuno. Bez obzira na to, određeni aspekti istraživanja rezistoma creva mogu već sada imati kliničke i epidemiološke implikacije. Primer je mogućnost otkrivanja i identifikacije novih genetičkih determinanti rezistencije na antibiotike. Tako je, na primer, u okviru analize crevnih rezistoma nehumanih primata i ljudi u jednom od humanih fekalnih metagenoma otkriven potpuno novi ARG odgovoran za rezistenciju na kolistin (26). Ekspresija u transformisanoj *E. coli* pokazala je vrednost minimalne inhibitorne koncentracije kolistina od 4 µg/ml, što je klinički relevantna rezistencija na ovaj antibiotik, koji se danas smatra lekom poslednjeg izbora u lečenju infekcija izazvanih multirezistentnim gram negativnim bakterijama. BLAST analiza je pokazala da je produkt novootkrivenog ARG, koji dovodi do rezistencije na kolistin, najbliži produkt genoma *Prevotella* spp. konstruisanom iz metagenomskih uzoraka (26). Vrste roda *Prevotella* su oportunisti niske virulencije u sastavu crevnog mikrobioma, tako da neposredan medicinski značaj prisustva gena koji kodira rezistenciju na kolistin u genomu ovih bakterija nije veliki. Ono što daje medicinski značaj ovom nalazu jeste da pravovremeno otkrivanje novih ARGs u rezistomu creva omogućava njihovu detaljnu karakterizaciju, analizu genetičke mobilnosti i praćenje, pre nego što nastanu uslovi za HGT drugim opasnijim bakterijama. Dalja spoznaja i definisanje uslova za HGT među komensalima mikrobioma creva i, posebno, između komensala mikrobioma i patogena, trebalo bi da doprinesu prevenciji i kontroli AMR bakterija kroz uspostavljanje mera praćenja i ograničavanja diseminacije ARGs rezistoma creva.

Crevni mikrobiom kao odbrana od bakterija rezistentnih na antibiotike

Uloga crevnog mikrobioma u odbrani od kolonizujućih mikroorganizama, uključujući i bakterije rezistentne na antibiotike, jedna je od esencijalnih i veoma kompleksnih funkcija mikrobioma, koja kao takva nije predmet ovog rada. Stoga će u ovom odeljku biti ukratko predstavljeni samo osnovni principi i medicinske implikacije crevnog mikrobioma kao linije odbrane protiv rezistentnih bakterija.

Organizam čoveka je izložen kontinuiranoj kolonizaciji mikroorganizmima, uključujući i patogene kojima je kolonizacija prvi korak u izazivanju infekcije. Deo kolonizujućih mikroorganizama može se integrisati u sastav našeg mikrobioma u statusu simbionata, ali i patosimbionata koji pod određenim uslovima proliferišu i postaju izazivači infekcija. Jedna od ključnih, ako ne i najvažnija, uloga humane mikrobiote, odnosno mikrobioma je zaštita od kolonizujućih patogena i proliferacije endogenih patobionata (42, 43). Otpor koji u tom smislu generiše i pruža mikrobiom, uključujući naravno i crevni, podrazumeva čitav niz mehanizama i interakcija, ali su dva ključna pravca delovanja direktna antimikrobna aktivnost mikrobioma (44, 45) i indirektno delovanje preko uticaja na maturaciju i programiranje imunskog sistema organizma domaćina (43). Potpuno isti principi važe i za odbrambenu ulogu crevnog mikrobioma u odnosu na bakterije rezistentne na antibiotike, tj. delovanje protiv ovih bakterija ostvaruje se mehanizmima uobičajenim za ovu funkciju mikrobioma (42, 43, 46-48). Jedan od primera su mehanizmi zasnovani na kompeticiji za resurse, kao što su nutrijenti, faktori rasta, faktori germinacije relevantni za sporogene bakterije, receptori i prostor (44, 47, 49). Važna je i grupa mehanizama koja obuhvata produkte metabolizma i druge produkte sa različitim vidovima aktivnog antibakterijskog delovanja, kao što su, na primer, bakteriocini (45-47).

Važne specifične okolnosti u vezi sa crevnim mikrobiomom i kolonizacijom bakterija rezistentnih na antibiotike su: a) upravo je kolonizacija gastrointestinalnog trakta polazna pozicija za značajan broj ovih bakterija, kao što su enterobakterije, enterokok i *Clostridioides difficile*, tako da je zaštitna uloga crevnog mikrobioma od potencijalno kritičnog značaja (22, 46); i b) rezistencija na antibiotike jeste komparativna prednost ovih bakterija jer terapija antibioticima dovodi do promena u mikrobiomu u smislu disbioze, čime se olakšava njihova kolonizacija, odnosno proliferacija (46-48). Tako je, na primer, u animalnom eksperimentalnom modelu infekcije urinarnog trakta pokazano da terapija antibioticima (amoksisilin, ciprofloksacin, fosfomicin) dovodi do drastičnih promena u crevnom mikrobiomu koje su se manifestovale značajnim smanjenjem diverziteta, uz višestruki porast zastupljenosti oportunističkih rezistentnih bakterija (50).

Pretpostavka pozitivnog uticaja crevnog mikrobioma na ukupno opterećenje AMR bakterija podrazumeva aktivnu ulogu crevnog mikrobioma u sprečavanju

kolonizacije i/ili proliferacije rezistentnih bakterija. Očekivane posledice su smanjenje diseminacije ARGs, pad učestalosti infekcija izazvanih rezistentnim bakterijama i, u krajnjem ishodu, smanjenje opterećenja AMR bakterija (47, 48). Kako bi se ovi efekti zaista i dostigli na nivou koji bi omogućio preciznije usmeravanje uloge crevnog mikrobioma u kontroli problema AMR bakterija, potrebno je definisanje strategija modulacije mikrobioma u cilju pojačanja aktivnosti specifično usmerenih protiv rezistentnih bakterija (10, 47, 48). Strategija koja se, pre svega, ispituje jeste „jačanje“ ili „naoružavanje“ crevnog mikrobioma u cilju postizanja blokade proliferacije rezistentnih bakterija, tj. postizanja efekta dekolonizacije. U ovom kontekstu ispituju se brojni pristupi, u širokom opsegu od konvencionalnih, kao što su ishrana bogata vlaknima i primena probiotika, do inovativnih, kao što je terapija bakteriofagima (10, 51). Transplantacija fekalne mikrobiote (engl. *fecal microbiota transplantation* - FMT) jedan je od mogućih pristupa koji je već postao deo preporučenih protokola za prevenciju rekurentnih *C. difficile* infekcija (52). Sistemska analiza rezultata 36 studija primene FMT u dekolonizaciji rezistentnih bakterija, kao što su enterobakterije rezistentne na karbapeneme i enterokok rezistentan na vankomicin, pokazala je uspešnost dekolonizacije u širokom opsegu od 20 do 90%, pri čemu je u određenim studijskim populacijama FMT bila značajno udružena sa smanjenjem učestalosti infekcija izazvanih rezistentnim bakterijama (53). Ipak, treba imati u vidu da FMT podrazumeva i rizik izazivanja suprotnog efekta, tj. transmisije rezistentnih bakterija mikrobioma donora u organizam primaoca i nastanak infekcija izazvanih ovim bakterijama. Stoga primena FMT u cilju postizanja efekta dekolonizacije bakterija rezistentnih na antibiotike zahteva čitav niz mera, koje uključuju ciljani izbor specifičnih subpopulacija pacijenata odgovarajućih za ovaj pristup, sveobuhvatni mikrobiološki skrining stolice donora, praćenje mogućih neželjenih efekata kod primaoca i jasnu identifikaciju mikrobiomskih markera udruženih sa uspešnim, odnosno neuspešnim ishodom dekolonizacije (54). Sumirano, primena FMT i drugih pristupa koji imaju potencijal da utiču na odbrambenu sposobnost crevnog mikrobioma u odnosu na rezistentne bakterije zahteva dalja istraživanja usmerena na dugoročno praćenje postignutih efekata, ispitivanje specifičnih efekata na rezistenciju i kompletnije sagledavanje složenosti i dinamike reaktivnosti mikrobioma na ovu vrstu intervencija.

Zaključak

Crevni mikrobiom, kao jedna od centralnih determinanti zdravlja i bolesti ljudi, na različite i složene načine povezan je sa AMR bakterijama. S obzirom na naše još uvek nepotpuno razumevanje praktično svih aspekata mikrobioma i njegovih funkcija, malo je jednoznačnih odgovora na pitanja u vezi sa mikrobiomom. Tako je i odgovor na pitanje postavljeno u naslovu ovog rada da je crevni mikrobiom istovremeno i funkcionalni rezervoar rezistencije bakterija na antibiotike i odbrana protiv ovih bakterija.

Uloga crevnog mikrobioma kao rezervoara rezistencije je nesporna, ali i dalje ostaju nepoznanice u vezi sa sastavom i kliničkim značajem rezistoma creva, faktorima koji ga menjaju, prirodom veze između disbioze mikrobioma creva i rezistoma, kao i specifičnom etiologijom disbioze. Posebno je značajno razumevanje dalje diseminacije ARGs rezistoma creva horizontalnim transferom, što je ključni vid doprinosa mikrobioma creva širenju rezistencije na antibiotike među bakterijama. S druge strane, zaštitna uloga crevnog mikrobioma u odnosu na bakterije rezistentne na antibiotike je takođe nesporna, ali smo još uvek daleko od potpunog sagledavanja složenosti i dinamike interakcija koje se uspostavljaju. Za definisanje efektivnih strategija modulacije mikrobioma u cilju postizanja aktivnosti specifično usmerenih protiv kolonizacije i proliferacije rezistentnih bakterija potrebno je razumevanje odbrambenog delovanja crevnog mikrobioma u svim aspektima, od ekoloških preko mehanističkih do metaboličkih.

Rezultati istraživanja različitih uloga mikrobioma creva u kontekstu AMR bakterija, od pretnje koju predstavlja kao izvor gena rezistencije do značajne zaštitne uloge, doprinose sagledavanju širenja gena rezistencije, otkrivanju novih genetičkih determinanti rezistencije i prepoznavanju mogućnosti za intervencije na nivou mikrobioma koje bi pokazale efikasnost u prevenciji i kontroli AMR bakterija.

Zahvalnica

Projekat Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije 451-03-137/2025-03/ 200110, potprojekat „Antimikrobna rezistencija i molekularna karakterizacija bolničkih patogena u Srbiji“.

Literatura

- World Health Organization. Antimicrobial resistance, 2023. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>.
- Tang KW, Millar BC, Moore JE. Antimicrobial resistance (AMR). *Br J Biomed Sci*. 2023; 80:11387.
- World Health Organization. Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) report. Antibiotic use data for 2022. Geneva: World Health Organization; 2025. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Founou RC, Founou LL, Essack SY. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2017; 12(12):e0189621.
- Malard F, Dore J, Gaugler B, Mohty M. Introduction to host microbiome symbiosis in health and disease. *Mucosal Immunol*. 2021; 14(3):547-54.
- Morrison M, Murtaza N, Talley NJ. The importance of the microbiome in the gut. In: Pimentel M, Mathur R, Barlow GM, editors. *Clinical understanding of the human gut microbiome*. Cham: Springer Nature Switzerland; 2024. pp.1-11.
- Ma Z, Zuo T, Frey N, Rangrez AY. A systematic framework for understanding the microbiome in human health and disease: from basic principles to clinical translation. *Sig Transduct Target Ther*. 2024; 9(1):237.
- Bianco DM, De Maio F. Applying the theory of broken windows to microbiome studies. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2025; 11(1):89.
- Anthony WE, Burnham CD, Dantas G, Kwon JH. The gut microbiome as a reservoir for antimicrobial resistance. *J Infect Dis*. 2021; 223(12 Suppl 2):S209-13.
- David B, Merrick B, Kuijper E, Benech N, Biehl LM, Corcione S, et al. How can the gut microbiome be targeted to fight multidrug-resistant organisms? *Lancet Microbe*. 2025; 6(8):101063.
- Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022; 399(10325):629-55.
- World Health Organization. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024: bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. Geneva: World Health Organization; 2024. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, Swetschinski LR, Gray AP, Wool EE, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990-2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *Lancet*. 2024; 404(10459):1199-226.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report 2023. Stockholm: ECDC; 2024.
- Kariuki S, Kering K, Wairimu C, Onsare R, Mbae C. Antimicrobial resistance rates and surveillance in sub-Saharan Africa: Where are we now? *Infect Drug Resist*. 2022; 15:3589-609.
- Sutton KF, Ashley LW. Antimicrobial resistance in the United States: origins and future directions. *Epidemiol Infect*. 2024; 152:e33.
- Holmes AH, Moore LS, Sundsfjord A, Steinbakk M, Regmi S, Karkey A, et al. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance. *Lancet*. 2016; 387(10014):176-87.
- Spagnolo F, Trujillo M, Dennehy JJ. Why do antibiotics exist? *mBio*. 2021; 12(6):e0196621.
- Årdal C, Balasegaram M, Laxminarayan R, McAdams D, Outterson K, Rex JH, et al. Antibiotic development — economic, regulatory and societal challenges. *Nat Rev Microbiol*. 2020; 18(5):267-74.
- Wells N, Nguyen VK, Harbarth S. Novel insights from financial analysis of the failure to commercialise plazomicin: implications for the antibiotic investment ecosystem. *Humanit Soc Sci Commun*. 2024; 11(1):1-3.
- Naylor NR, Hasso-Agopsowicz M, Kim C, Ma Y, Frost I, Abbas K, et al. The global economic burden of antibiotic-resistant infections and the potential impact of bacterial vaccines: a modelling study. *BMJ Glob Health*. 2025; 10(6):e016249.
- Price LB, Hungate BA, Koch BJ, Davis GS, Liu CM. Colonizing opportunistic pathogens (COPs): the beasts in all of us. *PLoS Pathog*. 2017; 13(8):e1006369.
- Lamberte LE, van Schaik W. Antibiotic resistance in the commensal human gut microbiota. *Curr Opin Microbiol*. 2022; 68:102150.
- Crits-Christoph A, Hollowell HA, Koutouvalis K, Suez J. Good microbes, bad genes? The dissemination of antimicrobial resistance in the human microbiome. *Gut Microbes*. 2022; 14(1):2055944.
- Bargheet A, Noordzij HT, Ponsero AJ, Jian C, Korpela K, Valles-Colomer M, et al. Dynamics of gut resistome and mobilome in early life: a meta-analysis. *eBioMedicine*. 2025; 114:105630.
- Campbell TP, Sun X, Patel VH, Sanz C, Morgan D, Dantas G. The microbiome and resistome of chimpanzees, gorillas, and humans across host lifestyle and geography. *ISME J*. 2020; 14(6):1584-99.
- da Silva SE, Reis IB, Monteiro MG, Dias VC, Machado ABE, da Silva VL, et al. Influence of human eating habits on antimicrobial resistance phenomenon: aspects of clinical resistome of gut microbiota in omnivores, ovolactovegetarians, and strict vegetarians. *Antibiotics (Basel)*. 2021; 10(3):276.
- D'Souza AW, Boolchandani M, Patel S, Galazzo G, van Hattem JM, Arcilla MS, et al. Destination shapes antibiotic resistance gene acquisitions, abundance increases, and diversity changes in Dutch travelers. *Genome Med*. 2021; 13(1):79.
- Fredriksen S, de Warle S, van Baarlen P, Boekhorst J, Wells JM. Resistome expansion in disease-associated human gut microbiomes. *Microbiome*. 2023; 11(1):166.
- Montassier E, Valdés-Mas R, Batard E, Zmora N, Dori-Bachash

- M, Suez J, et al. Probiotics impact the antibiotic resistance gene reservoir along the human GI tract in a person-specific and antibiotic-dependent manner. *Nat Microbiol.* 2021; 6(8):1043-54.
31. Xu L, Surathu A, Raplee I, Chockalingam A, Stewart S, Walker L, et al. The effect of antibiotics on the gut microbiome: a metagenomics analysis of microbial shift and gut antibiotic resistance in antibiotic treated mice. *BMC Genomics.* 2020; 21(1):263.
32. Shayista H, Nagendra Prasad MN, Niranjana Raj S, Prasad A, Lakshmi S, Ranjini HK, et al. Complexity of antibiotic resistance and its impact on gut microbiota dynamics. *Eng Microbiol.* 2024; 5(1):100187.
33. Boolchandani M, Patel S, Dantas G. Functional metagenomics to study antibiotic resistance. *Methods Mol Biol.* 2017; 1520:307-29.
34. Ellabaan MMH, Munck C, Porse A, Imamovic L, Sommer MOA. Forecasting the dissemination of antibiotic resistance genes across bacterial genomes. *Nat Commun.* 2021; 12(1):2435.
35. Forster SC, Liu J, Kumar N, Gulliver LA, Gould JA, Escobar-Zepeda A, et al. Strain-level characterization of broad host range mobile genetic elements transferring antibiotic resistance from the human microbiome. *Nat Commun.* 2022; 13(1):1445.
36. Lund D, Parras-Moltó M, Inda-Díaz JS, Ebmeyer S, Larsson DGI, Johnning A, et al. Genetic compatibility and ecological connectivity drive the dissemination of antibiotic resistance genes. *Nat Commun.* 2025; 16(1):2595.
37. Pärnänen K, Ruuskanen MO, Sommeria-Klein G, Laitinen V, Kantanen P, Meric G, et al. Variation and prognostic potential of the gut antibiotic resistome in the FINRISK 2002 cohort. *Nat Commun.* 2025; 16(1):5963.
38. Bich VTN, Le NG, Barnett D, Chan J, van Best N, Tien TD, et al. Moderate and transient impact of antibiotic use on the gut microbiota in a rural Vietnamese cohort. *Sci Rep.* 2022; 12(1):20189.
39. Armstrong E, Kulikova M, Yee N, Rishu A, Muscedere J, Sibley S, et al. Impact of antibiotic duration on gut microbiome composition and antimicrobial resistance: a substudy of the BALANCE randomized controlled trial. *Open Forum Infect Dis.* 2025; 12(3):ofaf137.
40. MacPherson CW, Mathieu O, Tremblay J, Champagne J, Nantel A, Girard SA, et al. Gut bacterial microbiota and its resistome rapidly recover to basal state levels after short-term amoxicillin-clavulanic acid treatment in healthy adults. *Sci Rep.* 2018; 8(1):11192.
41. Dhariwal A, Haugli Bråten LC, Sturød K, Salvadori G, Bargheet A, Åmdal H, et al. Differential response to prolonged amoxicillin treatment: long-term resilience of the microbiome versus long-lasting perturbations in the gut resistome. *Gut Microbes.* 2023; 15(1):2157200.
42. Caballero-Flores G, Pickard JM, Núñez G. Microbiota-mediated colonization resistance: mechanisms and regulation. *Nat Rev Microbiol.* 2023; 21(6):347-60.
43. Chen Y, Xiao L, Zhou M, Zhang H. The microbiota: a crucial mediator in gut homeostasis and colonization resistance. *Front Microbiol.* 2024; 15:1417864.
44. Osbelt L, Wende M, Almási É, Derksen E, Muthukumarasamy U, Lesker TR, et al. *Klebsiella oxytoca* causes colonization resistance against multidrug-resistant *K. pneumoniae* in the gut via cooperative carbohydrate competition. *Cell Host Microbe.* 2021; 29(11):1663-79.
45. Heilbronner S, Krismer B, Brötz-Oesterhelt H, Peschel A. The microbiome-shaping roles of bacteriocins. *Nat Rev Microbiol.* 2021; 19(11):726-39.
46. Baumler AJ, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature.* 2016; 535(7610):85-93.
47. Panwar RB, Sequeira RP, Clarke TB. Microbiota-mediated protection against antibiotic-resistant pathogens. *Genes Immun.* 2021; 22(5-6):255-67.
48. Nhu NTQ, Young VB. The relationship between the microbiome and antimicrobial resistance. *Clin Infect Dis.* 2023; 77(Suppl 6):S479-86.
49. Spragge F, Bakkeren E, Jahn MT, Araujo EBN, Pearson CF, Wang X, et al. Microbiome diversity protects against pathogens by nutrient blocking. *Science.* 2023; 382(6676):eadj3502.
50. Raplee I, Walker L, Xu L, Surathu A, Chockalingam A, Stewart S, et al. Emergence of nosocomial associated opportunistic pathogens in the gut microbiome after antibiotic treatment. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2021; 10(1):36.
51. Mangalea MR, Halpin AL, Haile M, Elkins CA, McDonald LC. Decolonization and pathogen reduction approaches to prevent antimicrobial resistance and healthcare-associated infections. *Emerg Infect Dis.* 2024; 30(6):1069-76.
52. Peery AF, Kelly CR, Kao D, Vaughn BP, Lebwohl B, Singh S, et al. AGA clinical practice guideline on fecal microbiota-based therapies for select gastrointestinal diseases. *Gastroenterology.* 2024; 166(3):409-34.
53. Bilsen MP, Lambregts MMC, van Prehn J, Kuijper EJ. Faecal microbiota replacement to eradicate antimicrobial resistant bacteria in the intestinal tract – a systematic review. *Curr Opin Gastroenterol.* 2022; 38(1):15-25.
54. Ghani R, Mullish GH, Davies FJ, Marchesi JR. How to adapt an intestinal microbiota transplantation programme to reduce the risk of invasive multidrug-resistant infection. *Clin Microbiol Infect.* 2022; 28(4):502-12.