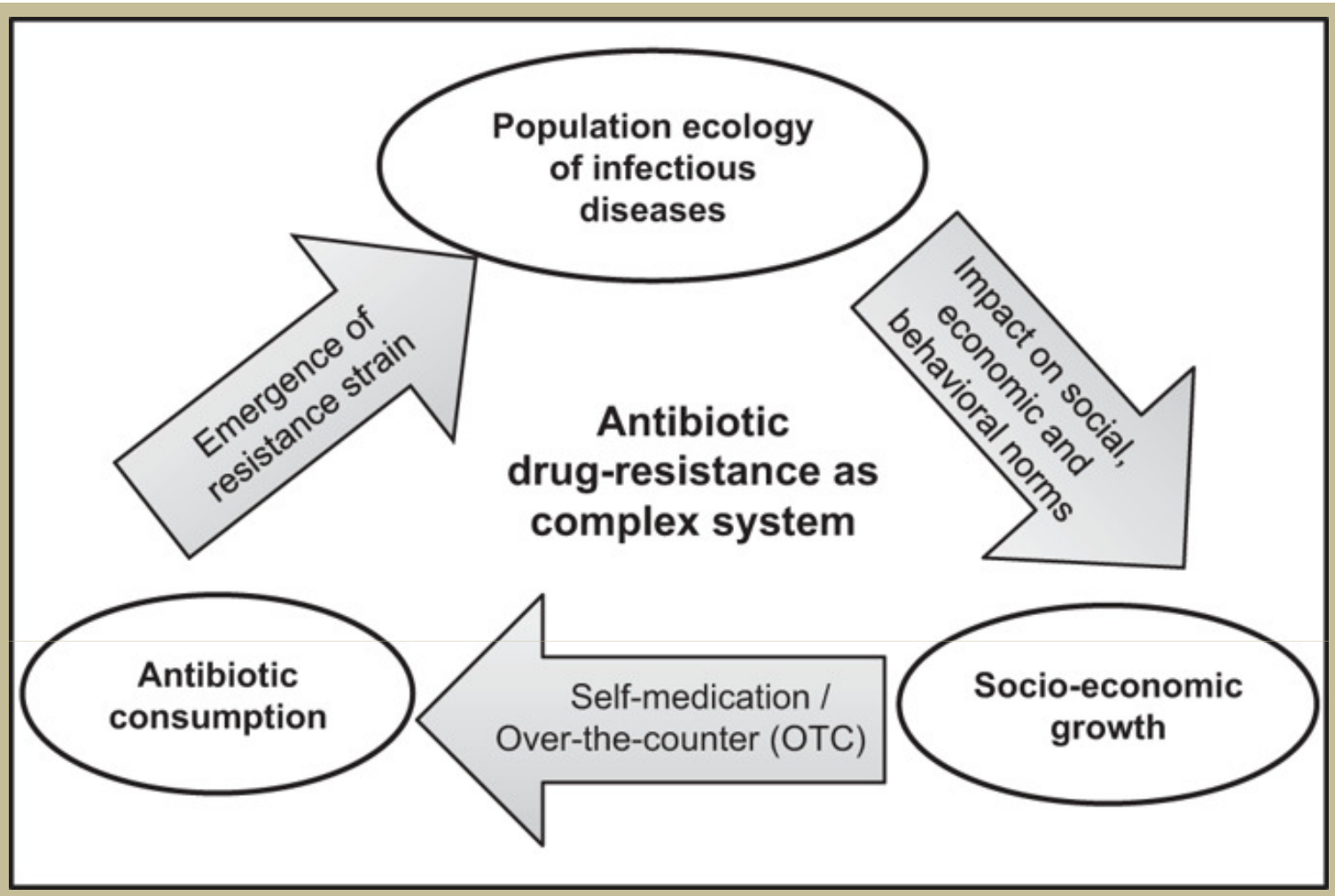
Cursuri Romeo T. Cristina®

Rezistența la antimicrobiene și utilizarea prudentă a antimicrobienelor în medicina veterinară

C.4-5. / S.II.



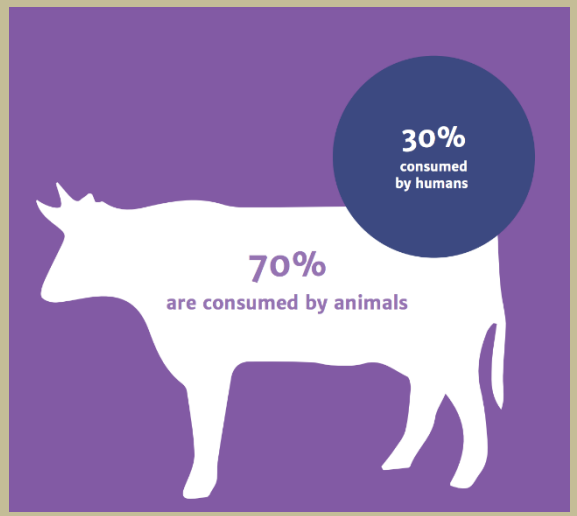
- **1. Impactul economic și social al rezistenței**

- **Utilizarea pe scară largă** a substanţelor antimicrobiene atât în **medicina umană**, cât şi în **medicina veterinară** s-a **accentuat**

accelerare în apariţia şi răspândirea RAM

- Potrivit unor estimări din literatură, cantitatea de antibiotic de uz veterinar **consumat la nivel mondial de efectivele de animalele de fermă este aproape dublă față de cel de uz uman**

-



- De exemplu, în **Statele Unite**

pentru obținerea **1 kilogram de carne și ouă**

aproximativ 300 mg de antibiotic

- Pe lângă utilizarea în **scop terapeutic sau preventiv** a substanțelor antimicrobiene, în multe țări acestea sunt folosite ca **promotori de creștere**.

- La sfârșitul anilor **1940** - fermierii au administrat antibiotice efectivelor de animale → tulpinilor bacteriene rezistente.

- **Uniunea Europeană a interzis în anul 2006 utilizarea antibioticelor ca promotor creștere**
- **Din 2007 ANSVSA face testări:**

Începând cu anul 2007, ANSVSA realizează aceste tipuri de determinări, de când a fost implementată legislația europeană specifică, referitoare la interzicerea admnistrarării în hrana animalelor a făinurilor de origine animală, a aditivilor alimentari, a hormonilor de creștere **și a antibioticelor utilizate ca și promotori de creștere.**

- Sunt **convingeri** că fără antibiotice industria zootehnică se va prăbuși
- Sunt autori și țări care susțin și demonstrează contrariul, de exemplu
- **în Danemarca**, cea mai mare țară europeană exportatoare de carne de porc din lume, exportând aproximativ 90% din ceea ce produc, s-a constatat **o creștere după interzicerea utilizării antibioticelor pentru creștere suinelor**

Comment | Published: 27 June 2012

Sustainable farming

Get pigs off antibiotics

Frank Aarestrup

Nature **486**, 465–466(2012) | Cite this article

1308 Accesses | **74** Citations | **114** Altmetric | Metrics

Frank Aarestrup explains how he helped Denmark to cut the use of antibiotics in its livestock by 60%, and calls on the rest of the world to follow suit.

- **În anul 2008**, ca urmare a unei dezbateri a **Consiliului European cu privire la rezistența la antimicrobiene, statele membre UE au decis:**

consolidarea sistemelor de supraveghere

îmbunătățirea calității datelor privind consumul și rezistența la antimicrobiene, atât în sectorul uman cât și veterinar.

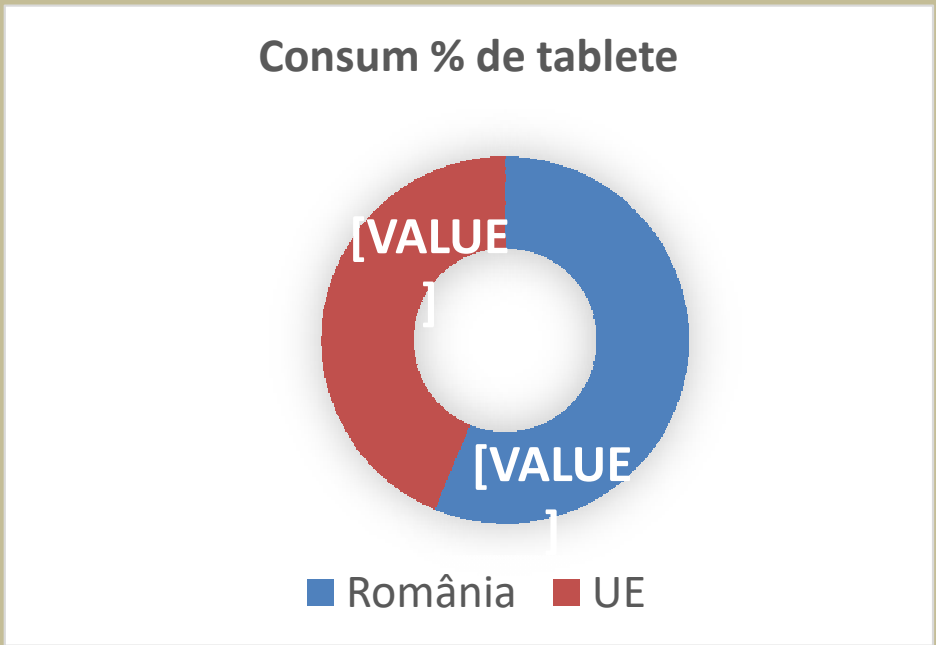
- Comisia Europeană a solicitat Agenției Europene pentru Medicamente (**EMA**) să preia conducerea în colectarea datelor privind utilizarea de agenți antimicrobieni de uz veterinar în statele membre.
- EMA a solicitat să consulte Centrul European de Prevenire și Control al Bolilor (**ECDC**), Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară (**EFSA**) și Laboratorul de referință al UE pentru rezistența antimicrobiană (**EURL-AMR**)

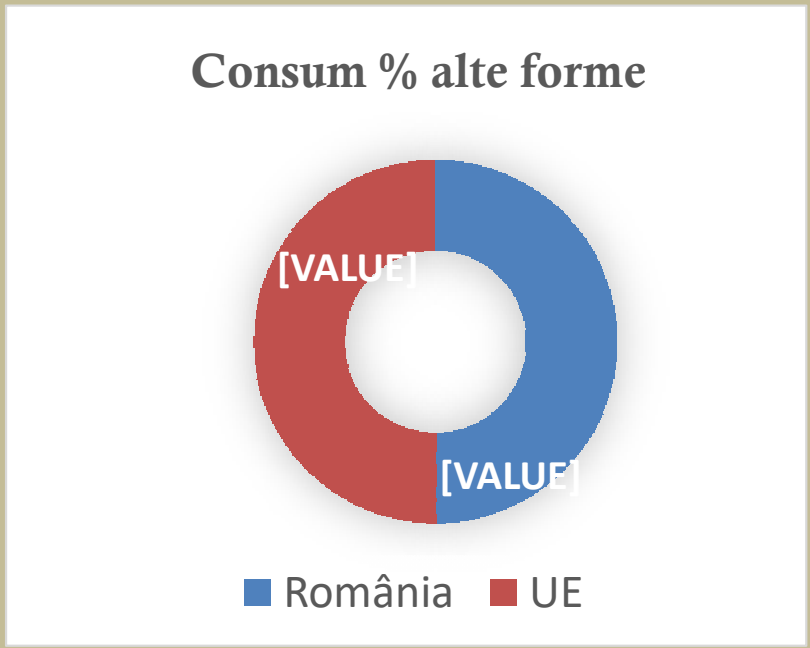
Consumul…

Conform Trends from 2010 to 2015 Seventh ESVAC report în România

- Consumul de antimicrobiene de uz veterinar a fost de **259,6 tone substanță activă**, din care **257,2 tone** substanță activă au fost forme medicamentoase administrate în principal la **animalele de rentă** (99.1% din total), și doar **2,4 tone** substanță activă sub formă de tablete administrate în principal la **animalele de companie**

	Tablete		Alte forme farmaceutice		
Țară	Tone	Procente din consum total	Tone	Procente din consum total	Total tone
România	2.4	0,9%	257.2	99,1%	259.6
UE medie/30 țări	2.08	0.7%	276.63	99,3%	278.71





- *Conform Trends from 2010 to 2015 Seventh ESVAC report în cele 30 de țări participante*
- Consumul preparatelor antimicrobiene veterinare, exprimate în **mg per unitate de corecție a populației** (PCU), a variat de la **2,9 mg / PCU până la 434,2 mg / PCU**.
- De asemnea utilizarea claselor de antimicrobiene a variat substanțial în funcție de țară

	Consum (tone) pentru animalele de rentă	PCU (1.000 tone)	mg/PCU
România	257.2	2.559	100.5
UE	276.63	312.9	100.6

Sursa:
https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/580710/1101060-v1-Understanding_the_PCU_-_gov_uk_guidance.pdf

Ce este PCU = Population Correction Unit?

Slaughter cows	425 kg
Slaughter heifers	200 kg
Slaughter bullocks and bulls	425 kg
Slaughter calves & young cattle	140 kg
Imported/exported cattle for slaughter	425 kg
Imported/exported for fattening	140 kg
Livestock dairy cows	425 kg
Slaughter pigs	65 kg
Imported/exported pigs for slaughter	65 kg
Imported/exported pigs for fattening	25 kg
Livestock sows	240 kg
Slaughter broilers	1 kg
Slaughter turkeys	6.5 kg
Imported/exported poultry for slaughter	1 kg
Slaughter sheep & goats	20 kg
Imported/exported sheep & goats for slaughter	20 kg
Livestock sheep	75 kg
Living horses	400 kg
Slaughtered fish based on liveweight	- - kg
Slaughter rabbits	1.4 kg

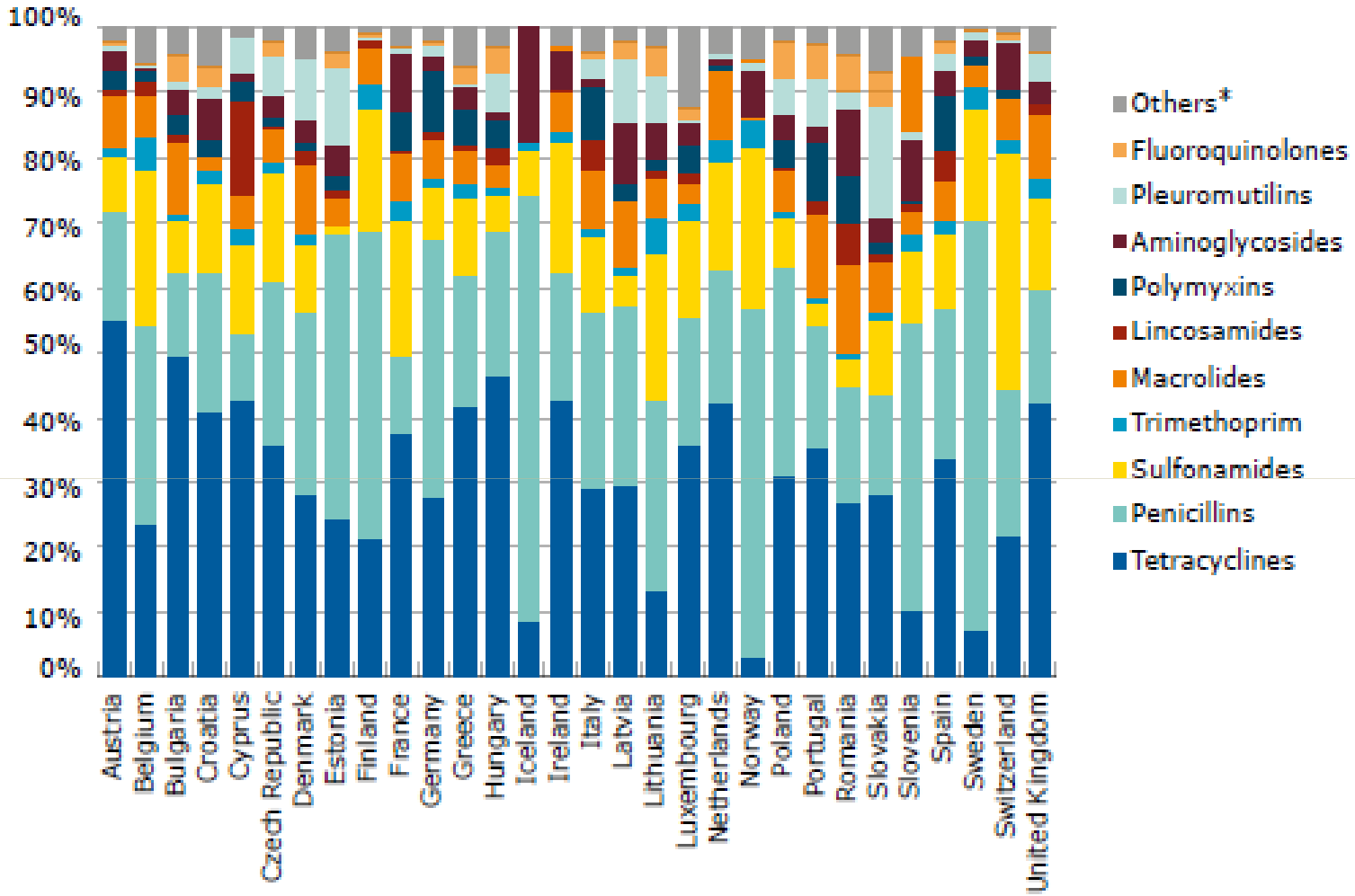
Understanding the Population Correction Unit used to calculate antibiotic use in food-producing animals.

Conform datelor, în Europa, pe parcursul scurtei existenţe:

- **un pui este tratat cu antibiotice de 2,3 ori, iar**
- **un porc de 5,3 ori!**

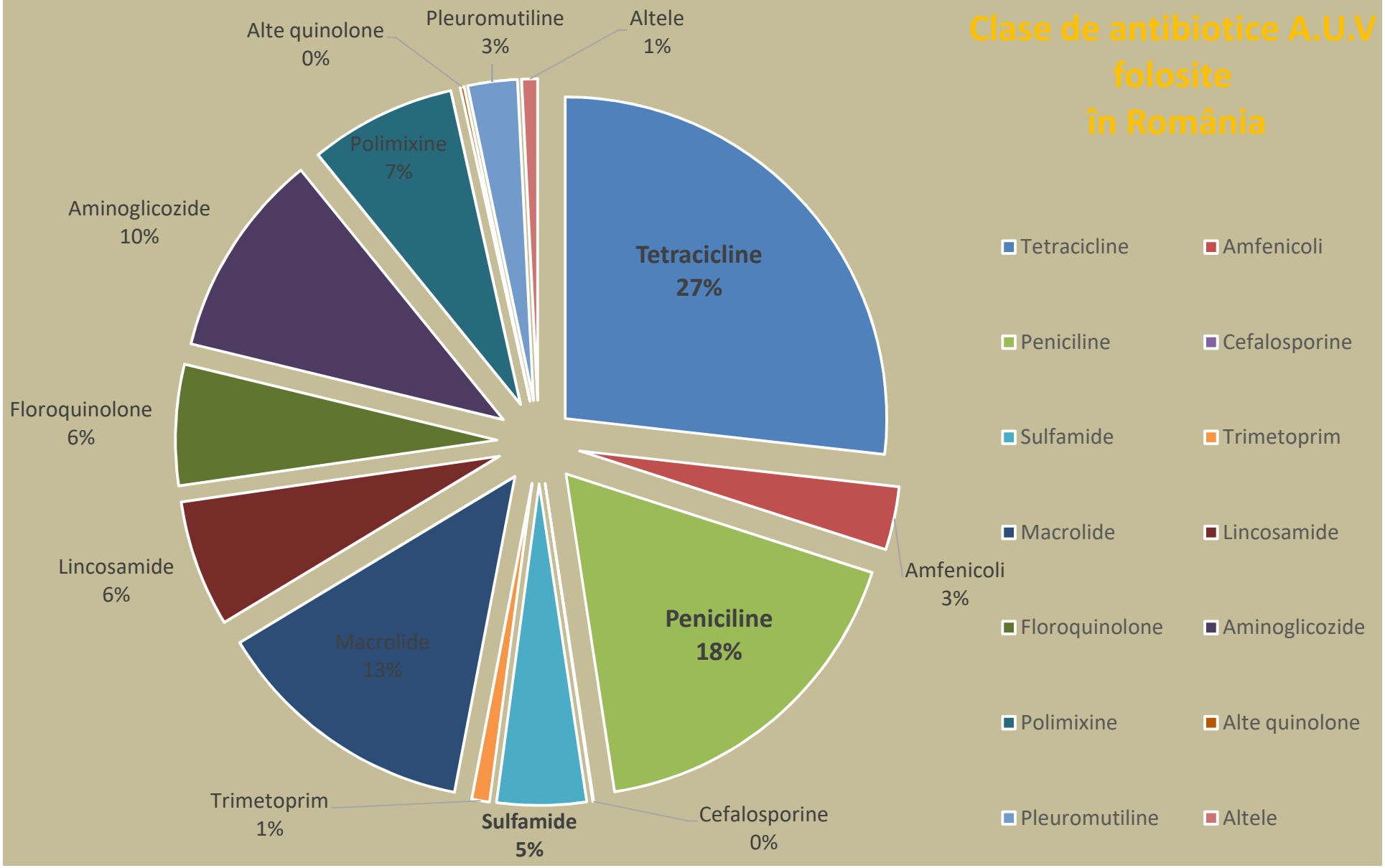
- **În România**, principalul indicator pentru **consumul de antimicrobiene**, și anume **mg/PCU**, care ne indică cantitatea de substanță activă consumată echivalată prin unitatea de corecție a populației, a avut o valoare de **100.5 mg/PCU**, fiind aproape identică cu **media (100.6 mg/PCU) din UE**.
- Valorile cele mai mari pentru acest indicator s-au înregistrat în Cipru și Spania cu valori de 434.2, respectiv 402.0 mg/PCU

Proportion of the total sales of the different veterinary antimicrobial classes, in mg/PCU, in the 30 European countries, for 2015



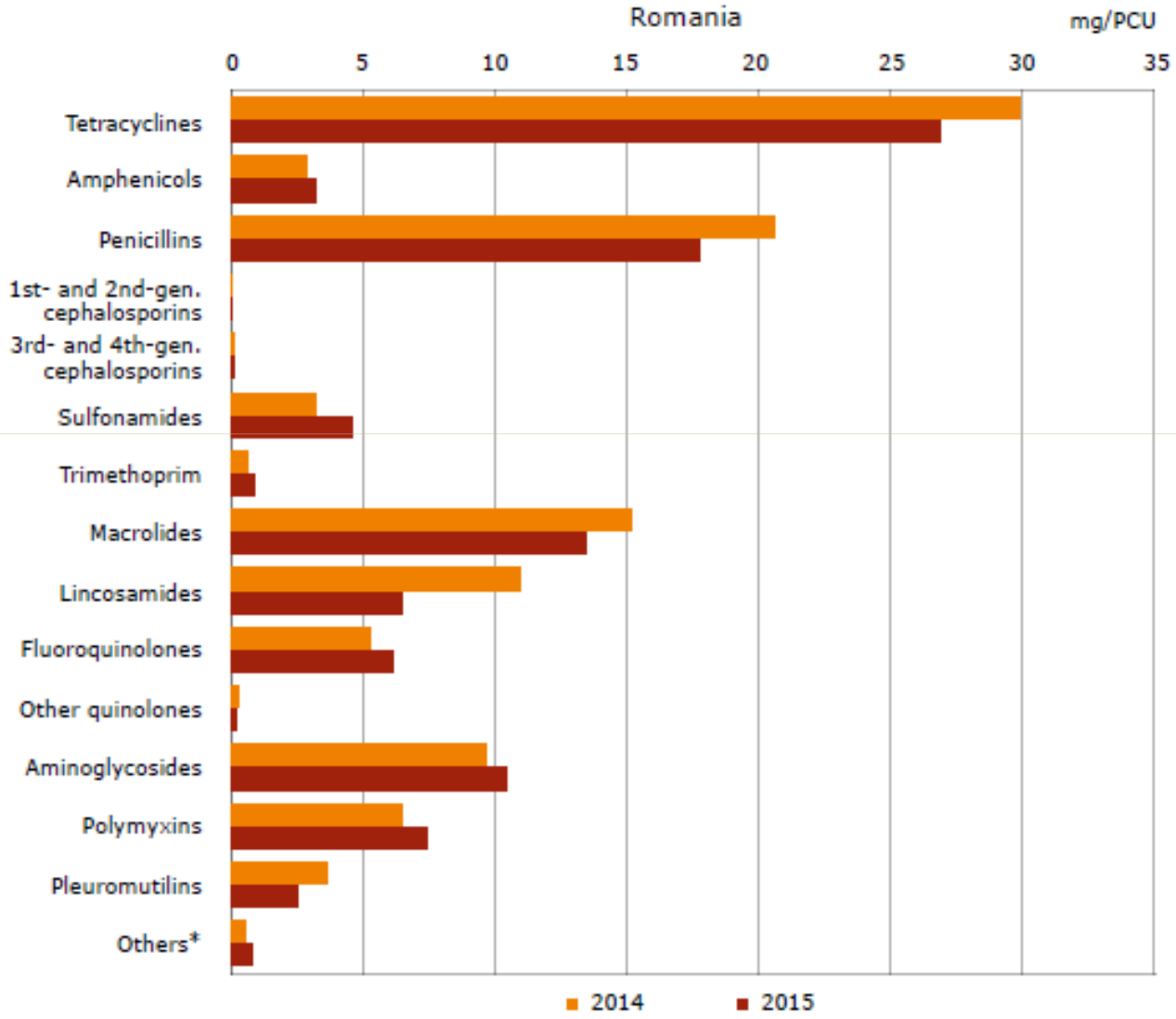
Sursa:
https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf

În România consumul de **tetracicline** a reprezintat cea mai ridicată valoare **27%**, iar alături de **peniciline și sulfamide** au reprezentat **50% din cantitatea totală** de antimicrobiene utilizată (100.5 mg/UPC)

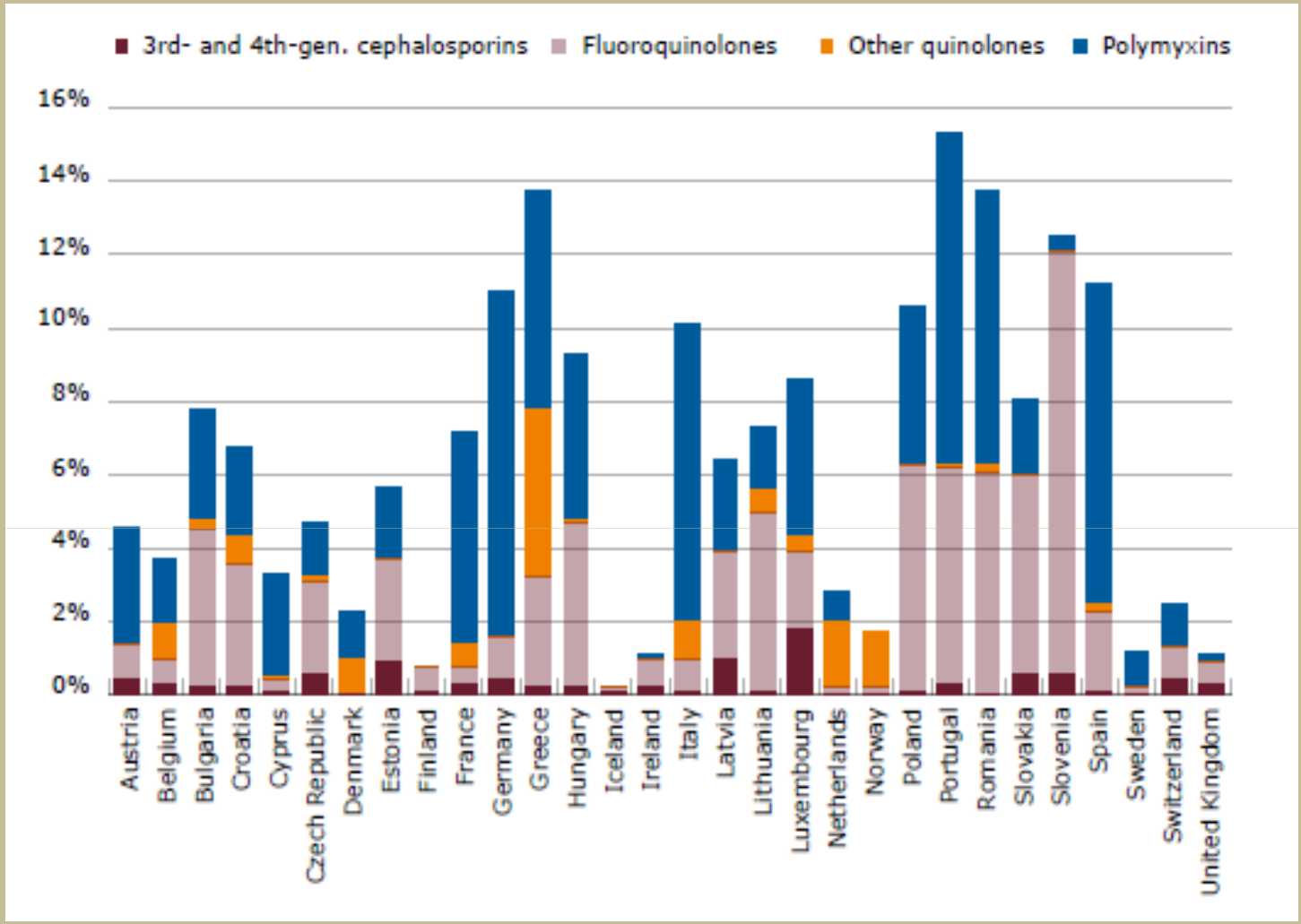


Romania

Figure 105. Sales (mg/PCU) by antimicrobial class in Romania, from 2014 to 2015

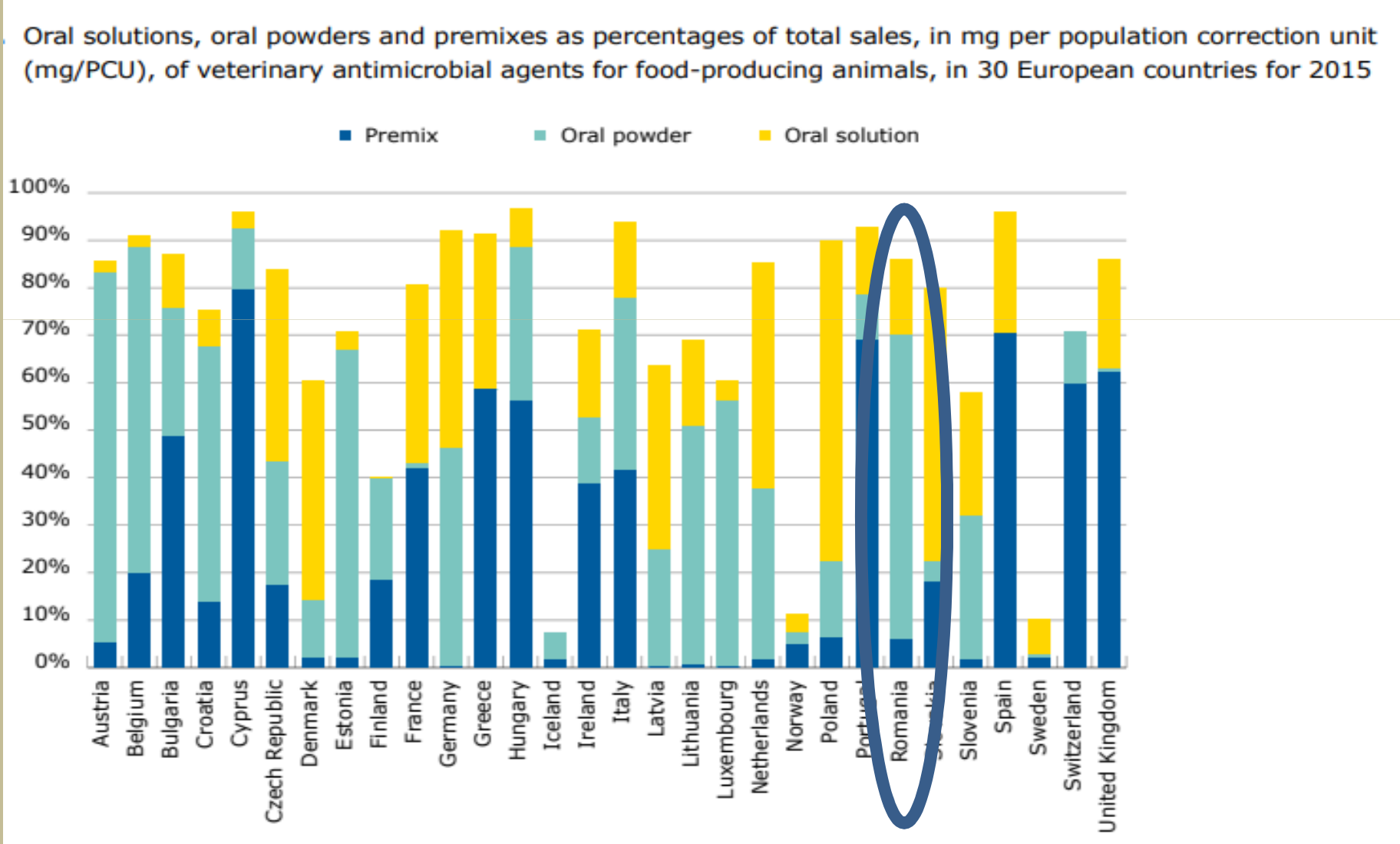


Sursa: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf



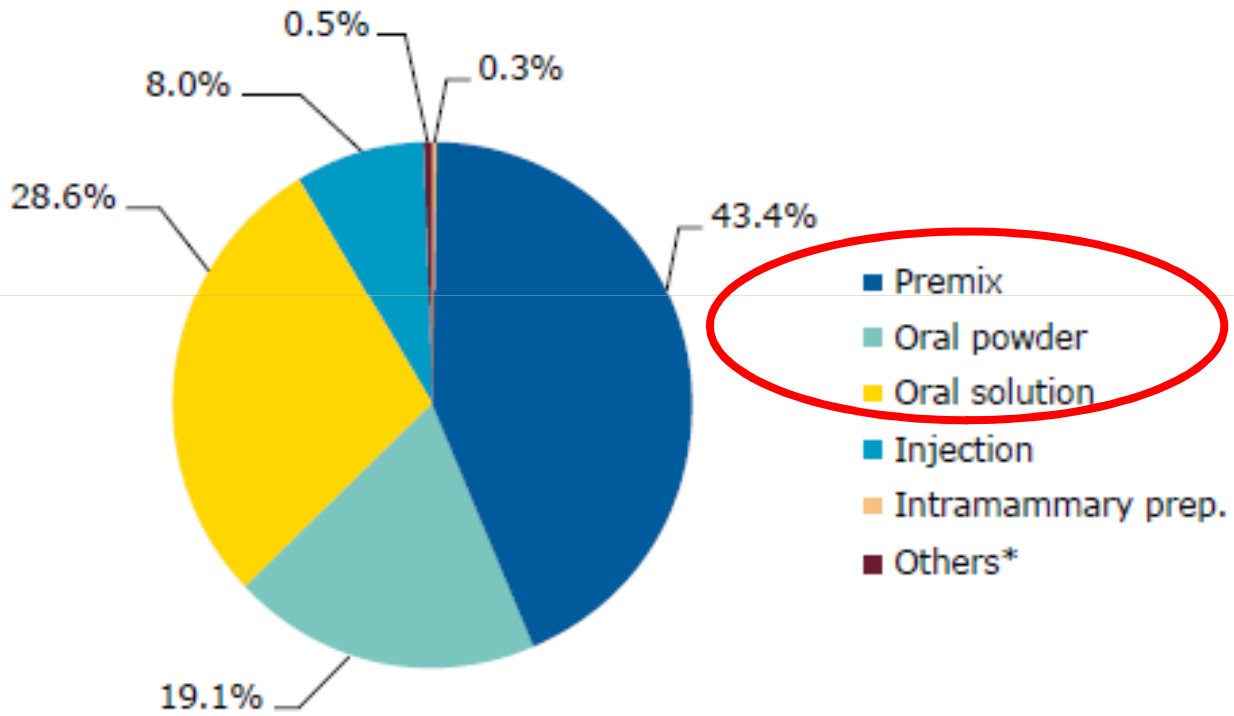
Sursa:
https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf

În România, cele mai utilizate forme medicamentoase pentru administrarea antibioticelor la animalele de rentă au fost: pulberile orale, soluțiile orale și premixurile. Aceste trei categorii reprezintă aproximativ 87% din totalul formelor



În EUROPA

Distribution of sales, in mg/PCU, of the various pharmaceutical forms of veterinary antimicrobial agents for food-producing animals, aggregated by the 30 European countries for 2015



Sursa:
https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf

În studiul: Joint Interagency Antimicrobial Consumption and Resistance Analysis (JIACRA) Report.

Publicat: EFSA Journal 2017;15(7):4872, 135 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4872

50 mg/kgc.

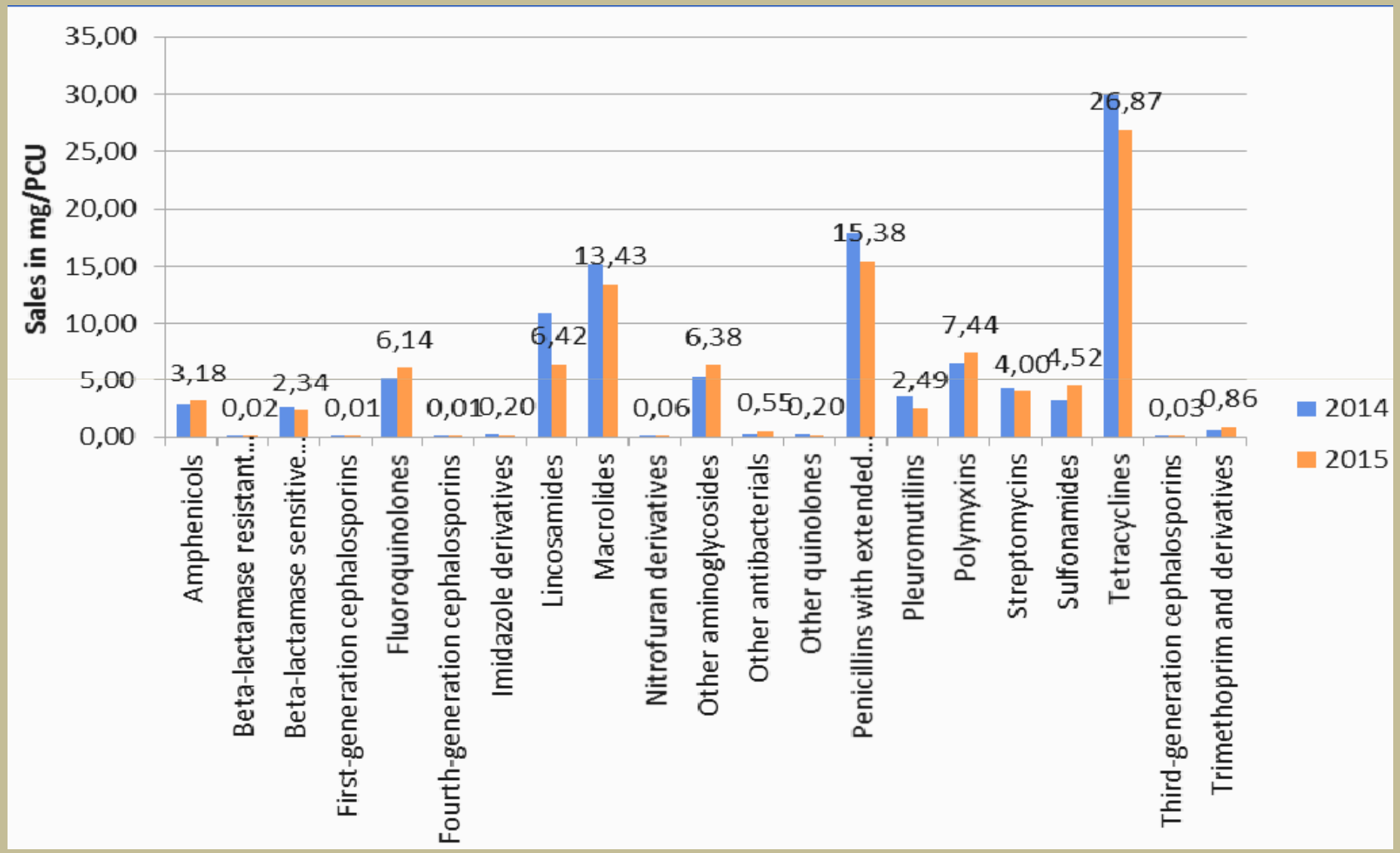
Pe o perioadă de trei ani 2013-2015, **consumul mediu total** estimat de antimicrobiene exprimate în mg s.a / kgc animal viu a fost de:

124 mg/kgc la om = media 118 mg/kgc. (50-182 mg/kgc) și

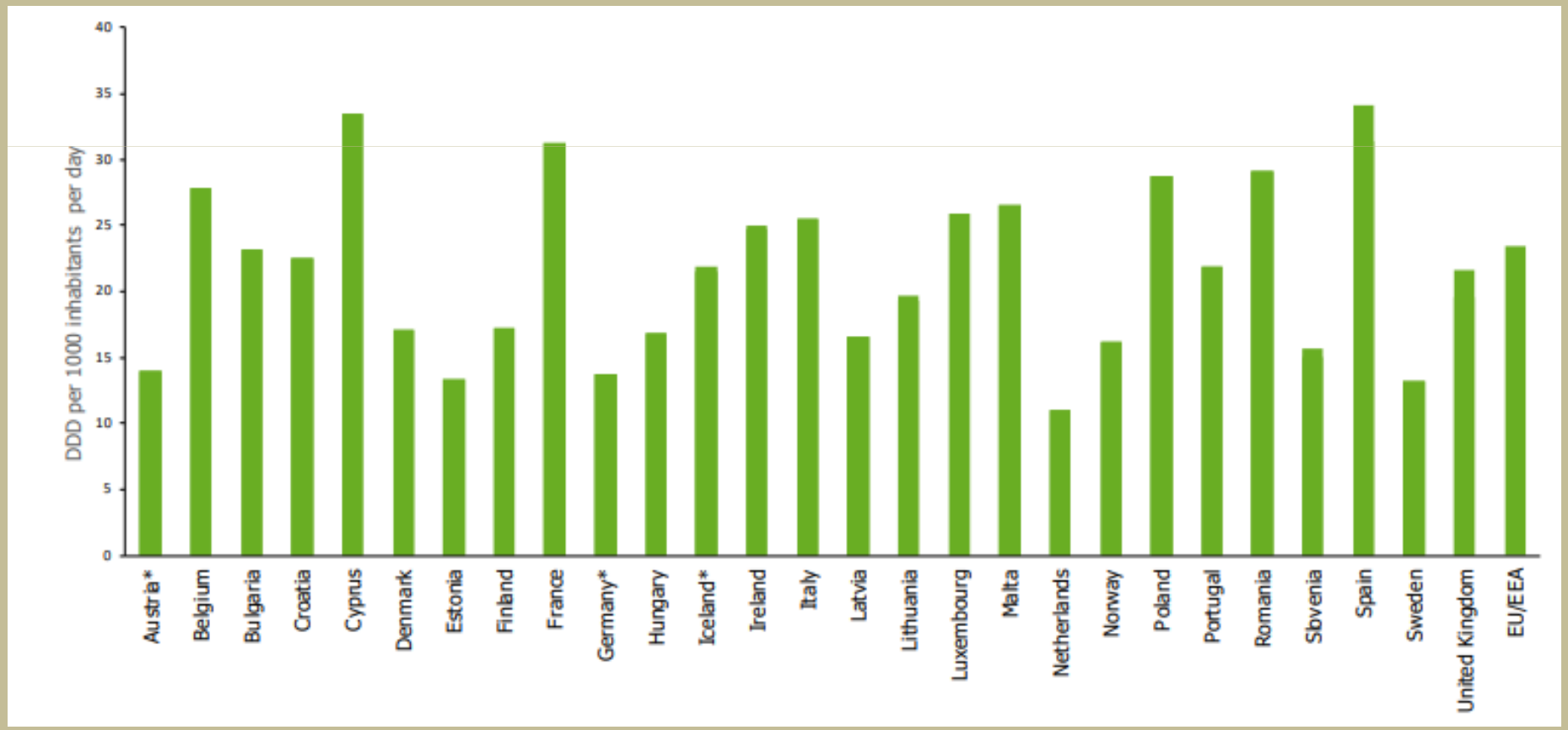
152 mg/kgc la animalele de rentă = media 67 mg/kg; (3-419 mg/kgc).

Valorile consumului de antibiotice au fost mai mici sau mult mai mici la animalele de rentă față de om, în 18 din 28 de țări, în 2 țări a fost similar, iar în 8 consumul a fost mult mai mare pentru animalele de rentă față de om.

România (comparație 2014 / 2015)



- **Conform ECDC și EFSA**
- **În România** consumul ridicat de antimicrobiene atât în **medicina umană**, care a fost de **29.1 DDD/1.000 de locuitori**, cât și în **medicina veterinară**, de **257,2 tone** sau 100.5 mg/PCU, ne situează între primele locuri la nivel european.

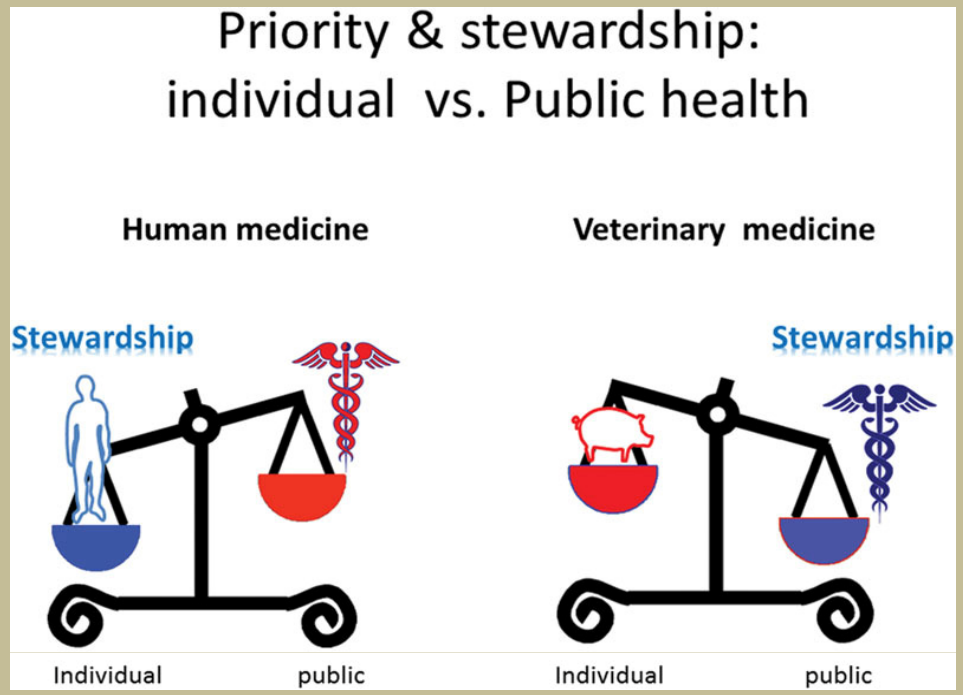


Impactul

utilizării imprudente a antiinfecțioaselor

...considerabil și greu de calculat!

Fapt



Consumul de medicamente în medicina veterinară îl depășește pe cel din medicina umană și este recunoscut faptul că medicina veterinară contribuie major la apariția și răspândirea rezistențelor la oameni… (OMS, 2012).

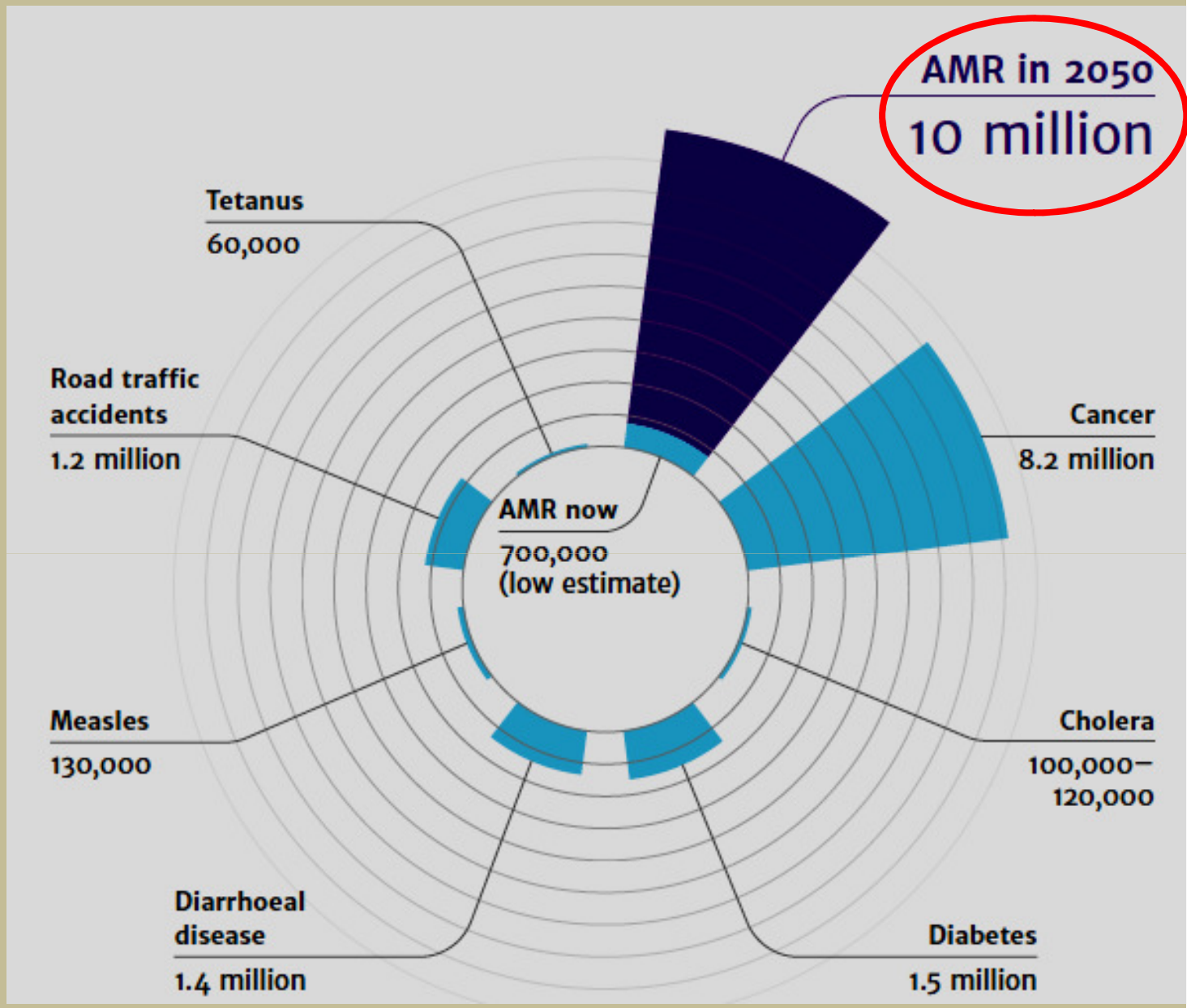
- **După: Jim O'Neill în:** *The review on antimicrobial resistance 2016 / Tackling Drug-resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations*

https://amrreview.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

- Mai mult de 70% din bacteriile care determină infecții intra-spitalicești sunt rezistente la cel puțin un antibiotic !
- În lume se estimează că, în fiecare an, infecțiile rezistente la medicamente conduc la decesul a cel **putin 700.000 de pacienti și generează costuri de 1,5 miliarde Euro / an numai în EU**, prin urmare, fenomenul rezistenței (mai ales la antimicrobiene)

a devenit una din prioritătile C.E.

- Aproximativ **200.000 de oameni/an** mor datorită tulpinilor de antibiotic multi-rezistente!
- In India, infecțiile neonatale antibiotic-resistente este cauza decesului a aprox. **60.000 de nou-născuți/an**!
- Din **40.000.000 oameni/an** care se tratează cu antibiotice pentru boli respiratorii **doar 13.000.000** au confirmată necesitatea prin examene de laborator!
- Impactul economic este considerabil și greu de calculat.
- Doar în SUA, **mai mult de 2 milioane de infecții/an** sunt urmarea rezistenței bacteriene la antibioticele de primă linie, tratamentele, costând sistemul de sănătate american **20 de miliarde de USD** în plus în fiecare an!

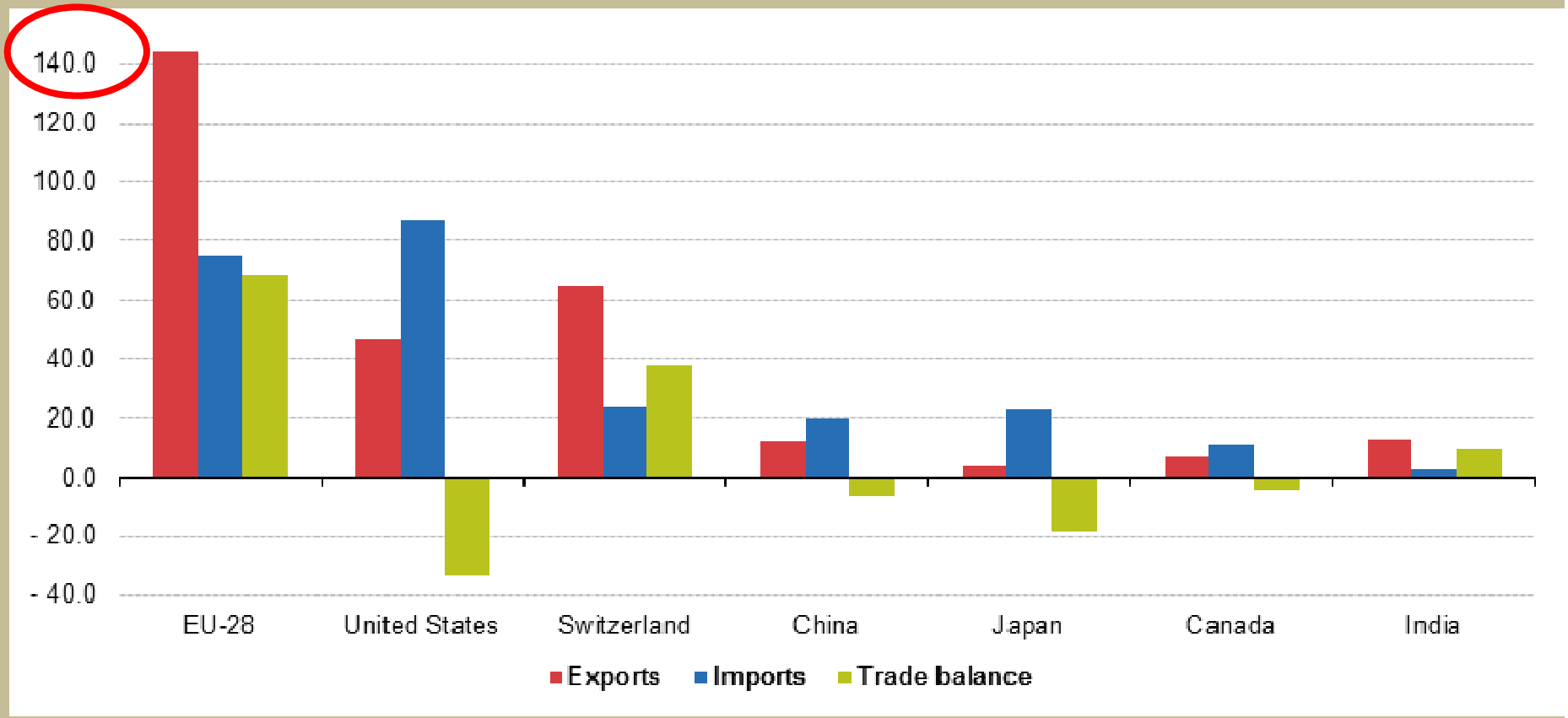


Sursa: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

Citând surse ECDC și EMA în EU:

Consecințele fenomenului de rezistență sunt **dramatice:**

- **tulpini multirezistente: aprox. 400.000 tulpini / an;**
- **zile de spitalizare în plus: 2.500.000 zile spitalizare/an;**
- **costuri de extra-spitalizare: 900 milioane euro/an;**
- **pierderi de productivitate: 600 milioane euro/an.**
- **anual, aproximativ 4 milioane pacienți dobândesc o infecție asociată asistenței medicale.**

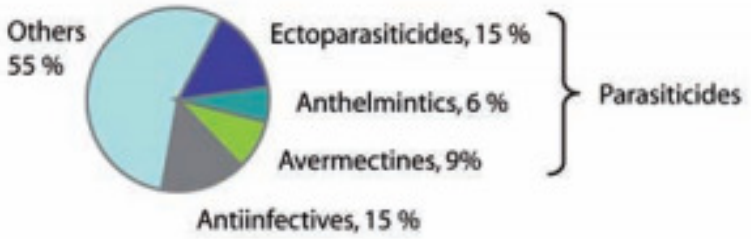


2016

Sursa: EUROSTAT

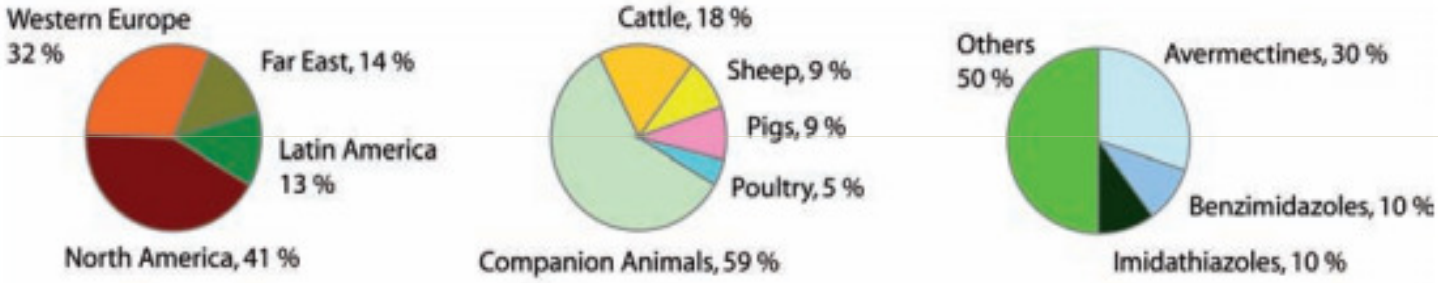
http://file.zums.ac.ir/ebook/072-Antiparasitic%20and%20Antibacterial%20Drug%20Discovery%20-%20From%20Molecular%20Targets%20to%20Drug%20Candidates%20(D.pdf

Animal Health Market: 16 Billion USD

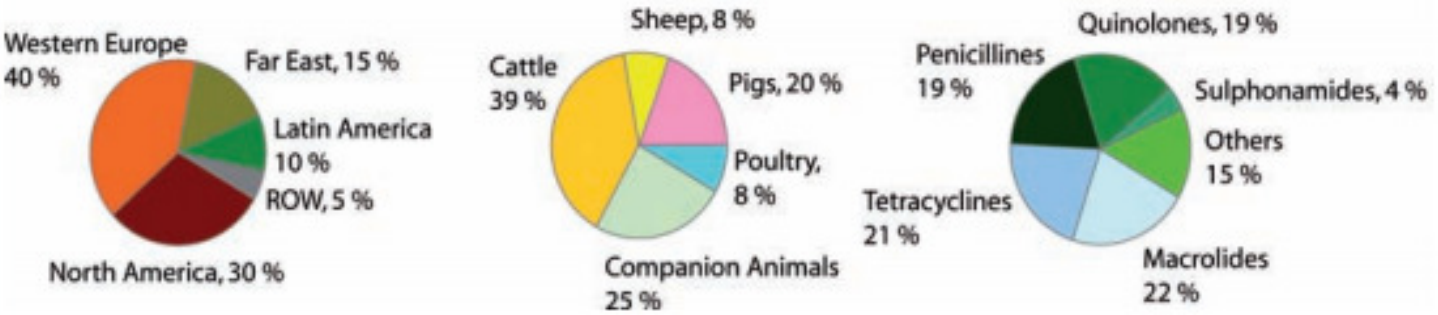


2006

Combined Parasiticides Market: 4.8 Billion USD



Antiinfectives Market: 2.4 Billion USD



*AMR is **not** a problem that can be solved **by any one country**, or even any one region… Our broad estimate for the cost of taking global action on AMR is up to **40 billion USD** over a **10-year period** (Jim O'Neil, 2016)*

!

2014 **800** (oncogene)

50 (antibiotice)

profilaxia

4.5 / an

60

U S N I H

1.2% antibio

18,6% onco

UK: **Gripa suină = 1.9** miliarde USD/an

SUA: **Ebola = 5.4** miliarde USD/an

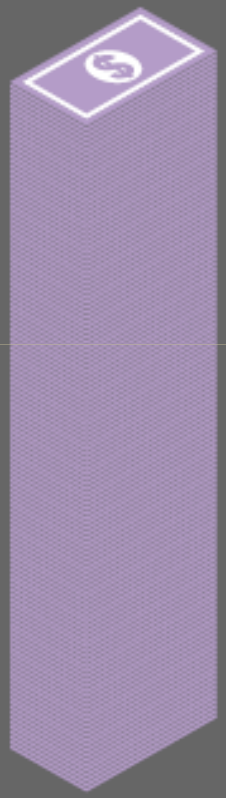
30.000-70.000 tone

10-20%

200

Less than 5%

of venture capital investment in pharmaceutical R&D between 2003 and 2013 was for antimicrobial development.



Total venture capital investment

$38bn

Antimicrobial venture capital investment

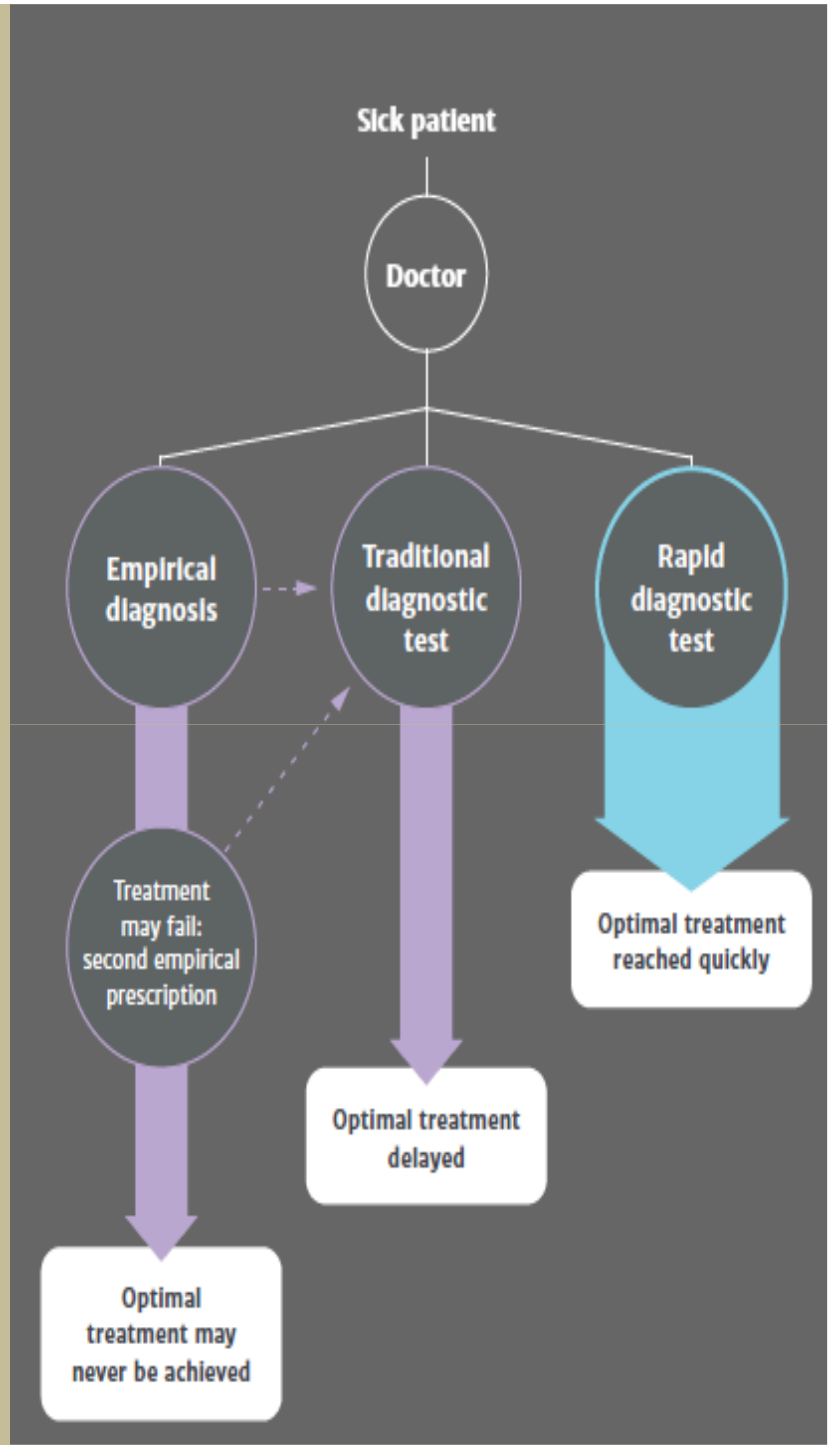
$1.8bn

Sursa: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

*Din **40.000.000** de americani care iau antibiotice pt. probleme respiratorii / an **27.000.000** le iau degeaba!*

*Today, **antibiotics are rarely prescribed based on a definitive diagnosis**. Diagnostic tests can show whether or not an antibiotic is actually needed, and which one.*

Dr Margaret Chan,
Director General of the WHO



Fapt!

Organ / țesut	Cal	Câine	Capră	Vacă	Om
Sânge	8,60	-	4,70	7,80	-
Creier	0,21	0,51	0,29	0,06	2,00
Cord	0,66	0,82	0,48	0,37	0,47
Pulmon	0,89	0,89	0,88	0,71	1,40
Ficat	1,30	2,32	0,95	1,22	2,60
Splină	1,11	0,26	0,25	0,16	0,26
Rinichi	0,36	0,61	0,35	0,24	0,44
Intestine	5,80	3,90	6,40	3,80	1,70
Continut intestinal	12,30	0,72	13,90	18,40	1,40
Piele	7,45	9,30	9,20	8,30	3,70
Muşchi	40,10	54,50	45,50	38,50	40,00
Oase	14,60	8,70	6,30	12,70	14,00
Tendoane	1,71	-	-	-	2,00
Tesut adipos	5,10	-	-	18,09	18,10
Greutate medie	380,0	16,0	39,0	620,0	70,0

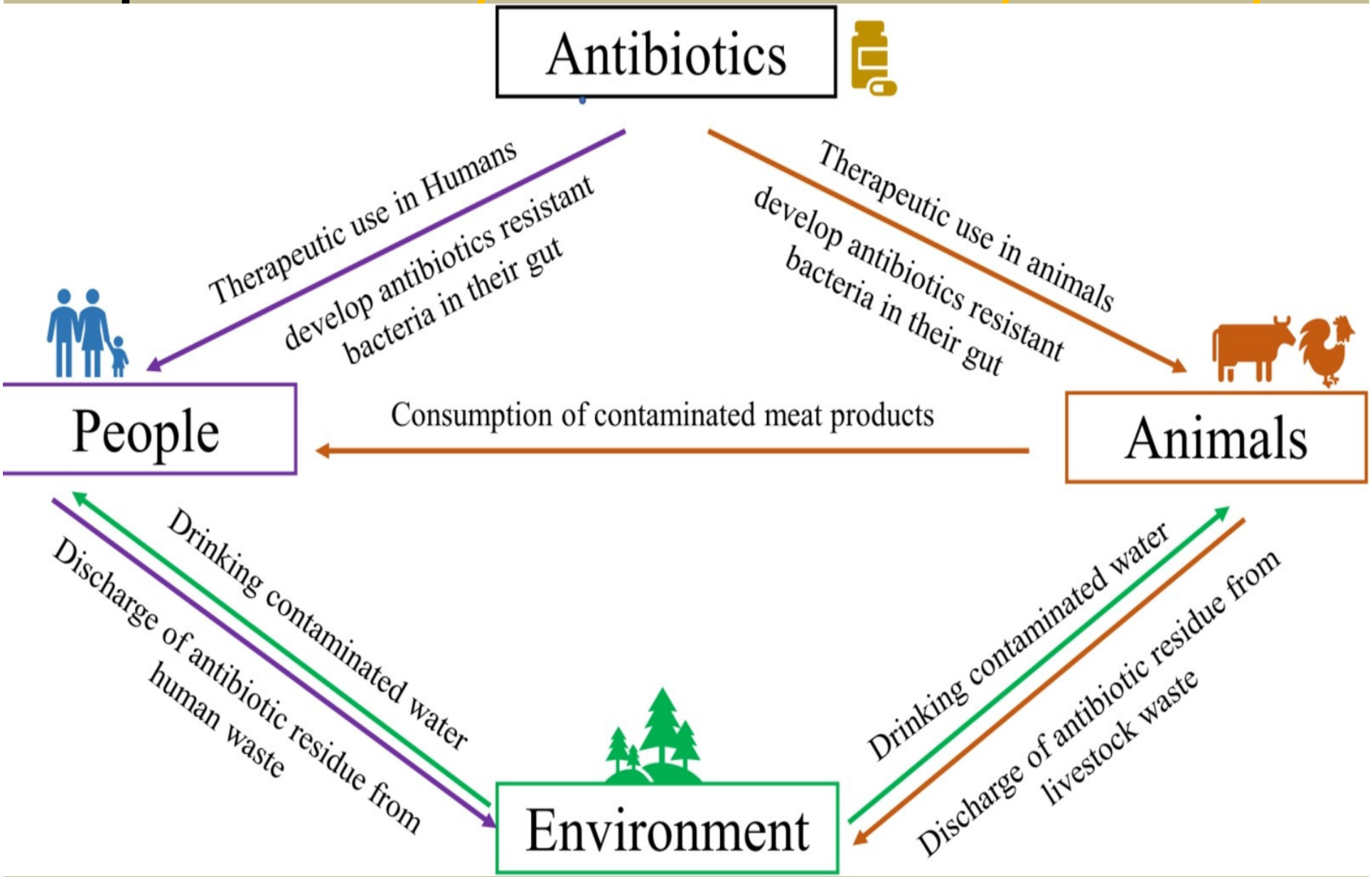
Proporția distribuției în diferite organe și tesuturi (Sinteză, Cristina, 2000)

!

Datorită fenomenului rezistenței se va pierde imensul avantaj câștigat în ultimul secol asupra:

1. Bolilor infecțioase	2. Cancerului	3. Procedurilor chirurgicale
• pneumonia, • tuberculoza, • HIV • malarie.	Antibioticele sunt cruciale pentru a ajuta chimioterapia și implicit pentru lupta împotriva infecțiilor asociate	• Transplantul de organe • operația de cezariana, • protezările • abdomenul acut • operațiile pe tendoane

rezistența la antibiotice este o problemă majoră care cuprinde interacțiunile dintre oameni, animale și



- Bacteriile rezistente la antibiotice **pot fi contactate de către oameni**

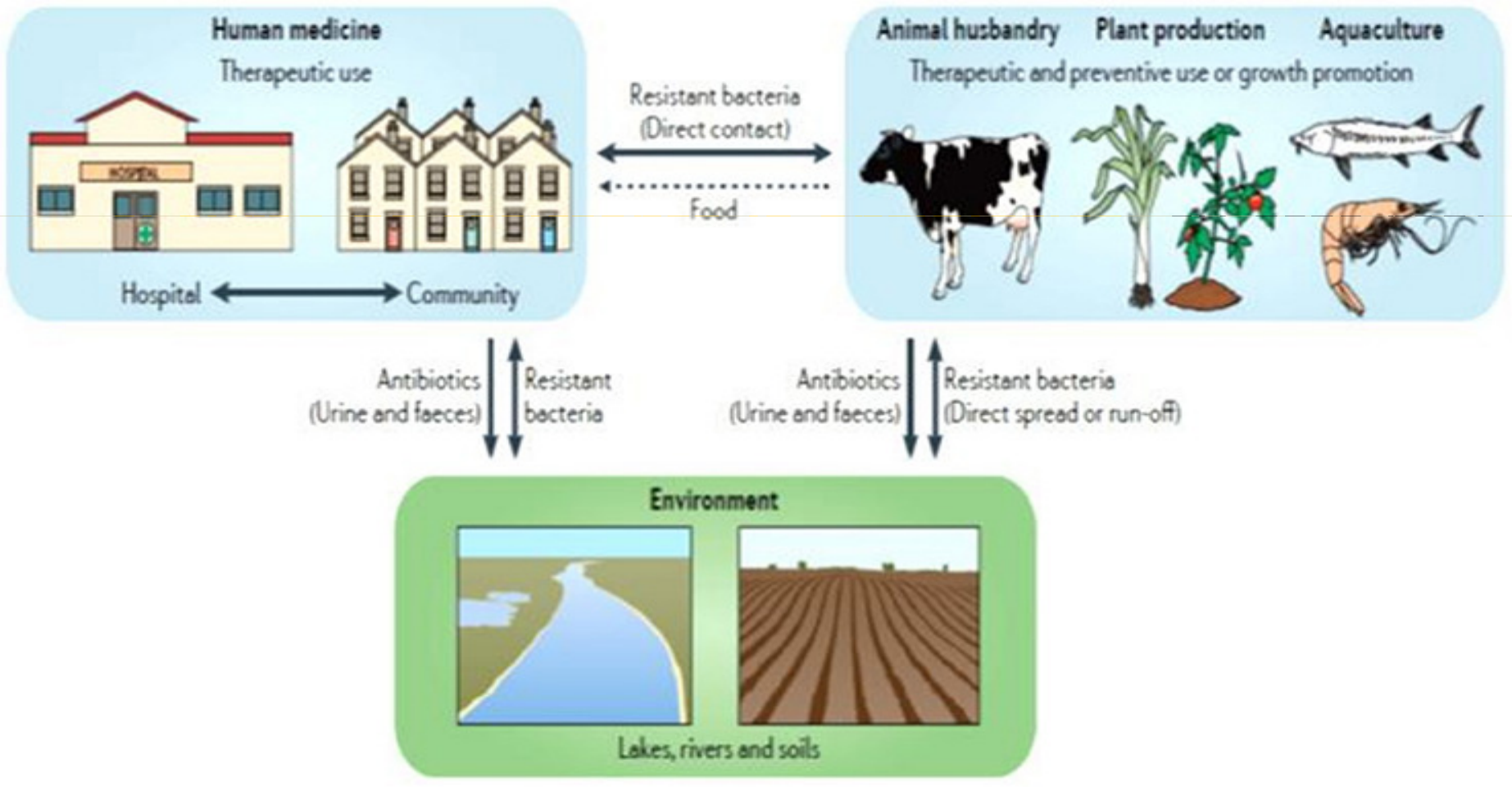
(i) **în mod indirect** de-a lungul **lanțului trofic prin consumul de alimente contaminate sau produse alimentare derivate**

(ii) **în urma contactului direct cu animalele colonizate / infectate sau prin intermediul substa** **a, fecale**

Aces **rans-sect** vent utiliz e și în cultu **la**

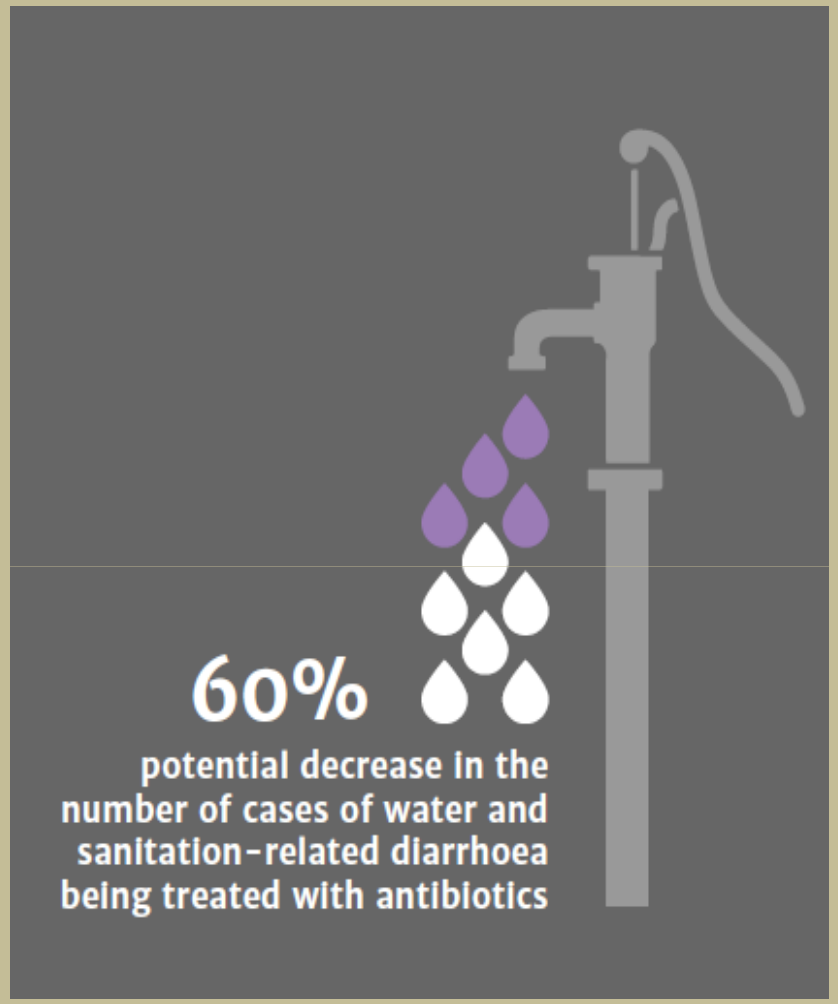
- În acest sens s-au efectuat o serie de studii și rapoarte care demonstrează o **rezistență ridicată la ampicilină, sulfamide și tetracicline pentru *Salmonella spp*. izolată de la om, *Salmonella* și *Escherichia coli* izolate de la purceii pentru îngrășare și de la viței.**
- S-au identificat proporții ridicate de **tulpini rezistente la ampicilină, sulfamide și tetracicline, în timp ce rezistența la cefalosporine de generația a treia a fost mai puțin frecventă.**
- Astfel, într-un raport de la nivelul UE, nivelul de **rezistență pentru E. coli izolat de la viței cu vârstă sub un an au fost în general mai mici**

- **Reziduurile de antibiotice, bacteriile rezistente la antibiotice și genele de rezistență** sunt considerate ca fiind poluanți de mediu și responsabili pentru accelerarea



Antibioticele care au fost identificate în apele de suprafață au inclus adesea:

- **macrolide,**
- **sulfamide,**
- **tetracicline,**
- **cloramfenicoli,**
- **clortetraciclina,**
- **sulfametazina,**
- **lincomicina,**
- **trimetoprimul,**
- **sulfadimetoxinul**
- **sulfametazina.**



Sursa:
https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

- **legătura AC/AR demonstrată statistic (p<0,05) pentru**:

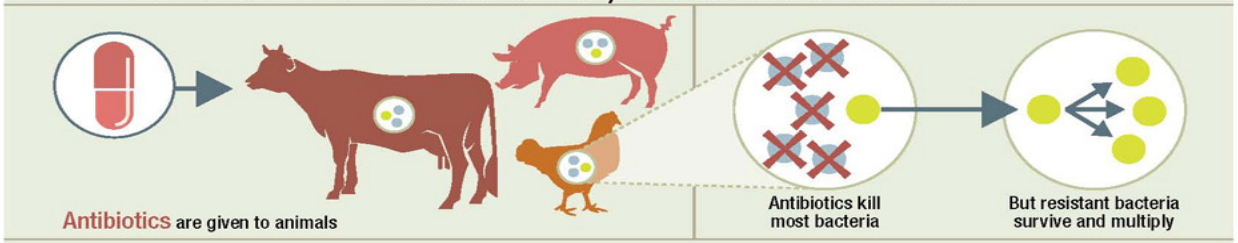
- fluorochinolone/ E.coli în ambele sectoare
- cefalosporinele din generația 3 & 4 la E.coli la oameni
- tetracicline la E. coli la animale
- carbapeneme și polimixine / K. pneumoniae la om
- macrolidele la animale au fost asociate cu rezistența la Campylobacter spp. la animale și oameni.
- cefalosporinele generația 3 & 4 = rezistență la fluorochinolone / E.coli la om
- fluorochinolonele/ Salmonella spp. și Campylobacter spp. La om a fost legat de consumul de fluorochinolone la animale

ANTIBIOTIC RESISTANCE

from the farm to the table

RESISTANCE

All animals carry **bacteria** in their intestines

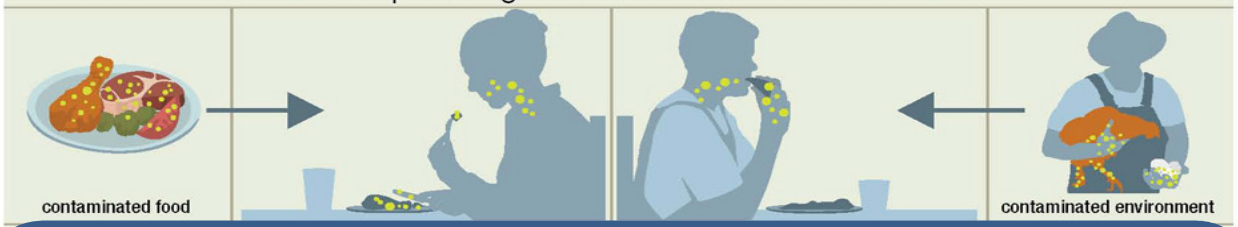


SPREAD

Resistant bacteria can spread to...

EXPOSURE

People can get sick with resistant infections from...



IMPACT

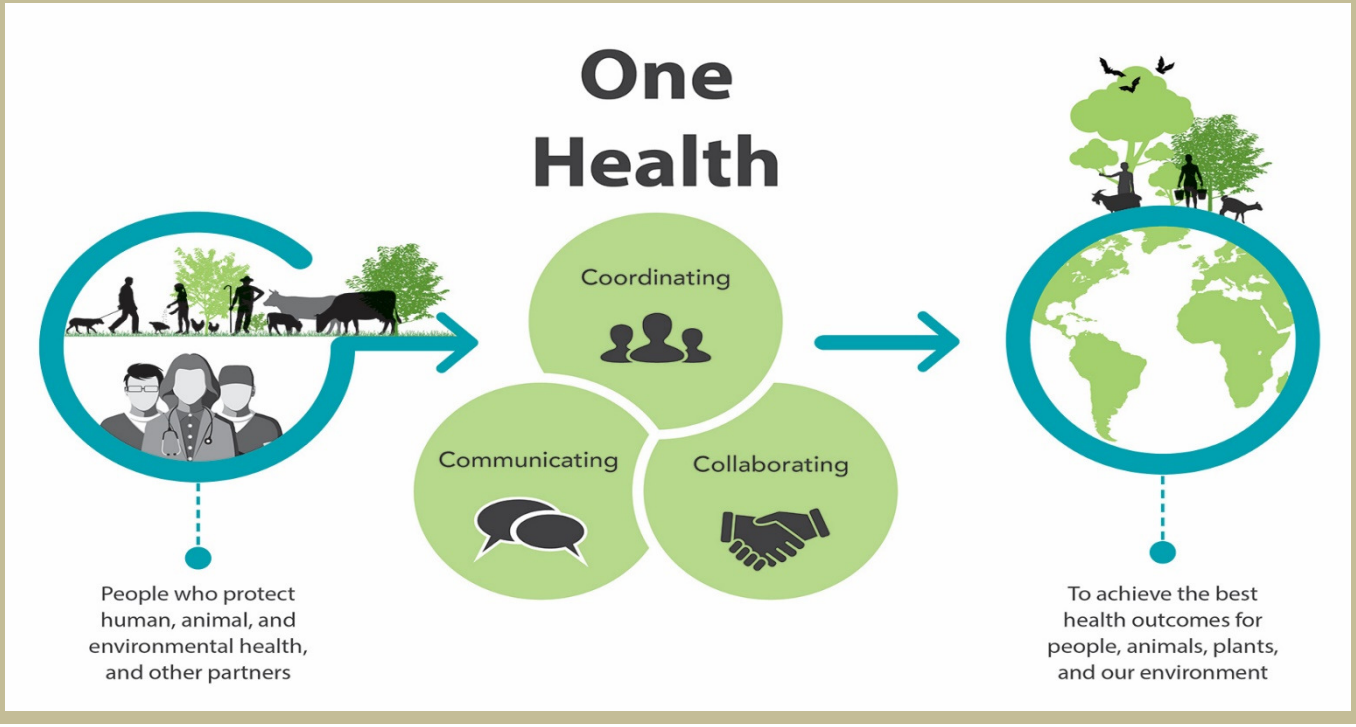
Some resistant infections cause...

Learn more about antibiotic resistance and food safety at **www.cdc.gov/foodsafety/antibiotic-resistance.html**

One World, One Health and "One Resistome"…

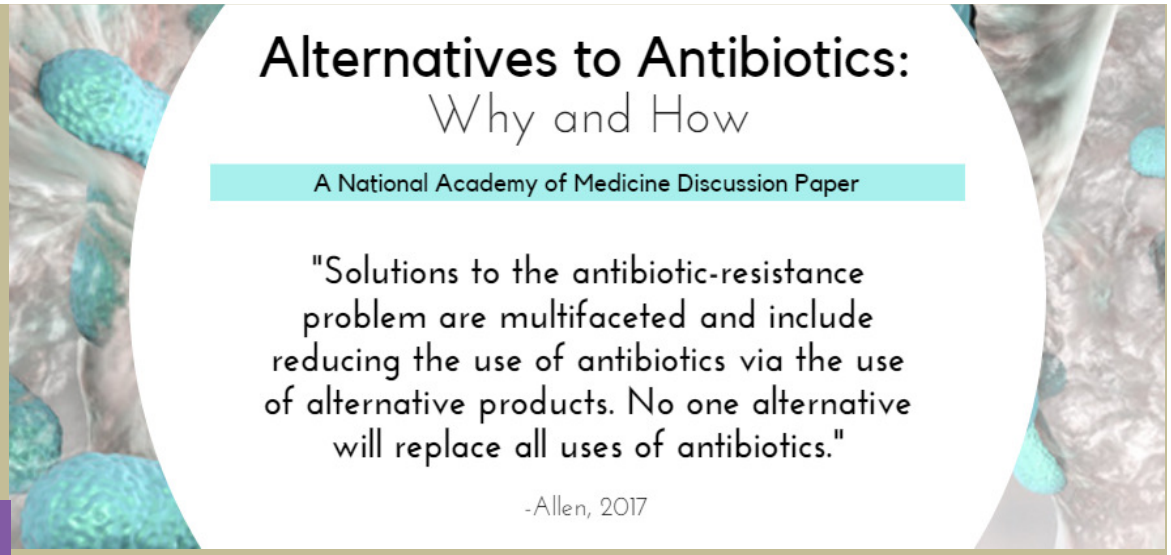
Given that the countries of the G20 account for 80% of total world meat production…, a large part of antibiotic consumption in livestock and the likelihood of generating drug resistance, currently rests with them.

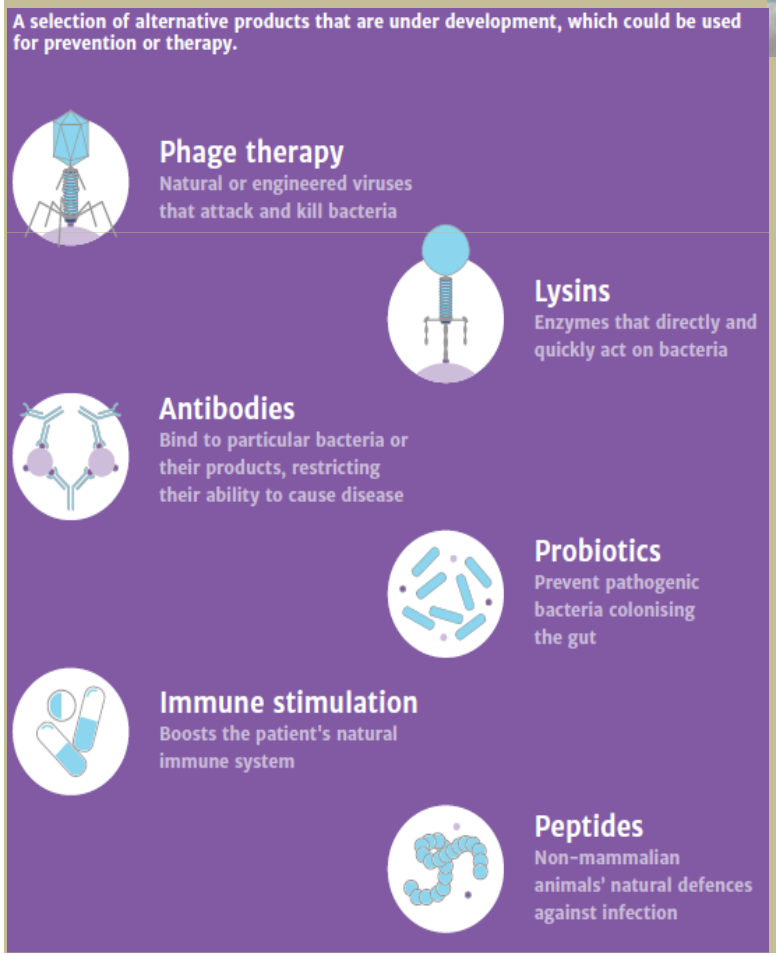
(Jim O'Neil, 2016)



The basics of public health – clean water, good sanitation and hygiene, infection prevention and control and surveillance – are as critical for reducing the impact of antimicrobial resistance as they are for infectious disease control

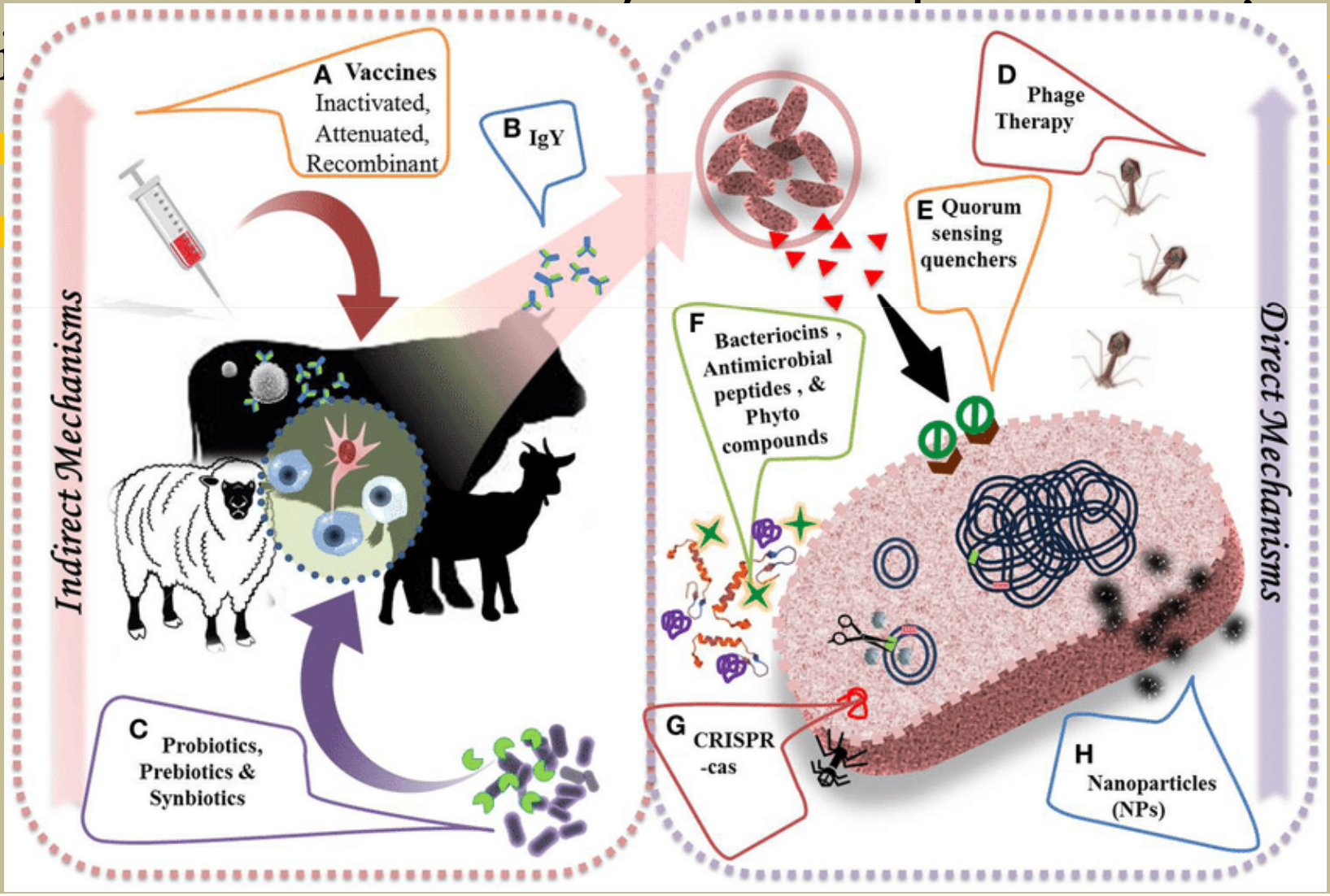
Dr Keiji Fukuda,
the Director General's Special
Representative for Antimicrobial Resistance
at the World Health Organization (WHO)





2. Noi mijloace și strategii împotriva fenomeului RAM

- Pe măsură ce rezistența la antimicrobienele convenționale crește, sunt cercetate diferite alternative la antimicrobiene, inclusiv produse obținute di ri, a de a



- Lupta împotriva RAM este **constantă**, iar descoperirea de noi antimicrobiene este **critică**.
- Deșii antibioticele au servit omenirii în ultimii 70 de ani, capacitatea bacteriilor de a se adapta rapid, a determinat căutarea **altor opțiuni**.
- Pentru a crește eficacitatea antifungicelor se dorește obținerea unor **substanțe cu toxicitate redusă, biodisponibilitate crescută, cu un spectru antifungic îmbunătățit, la care se adaugă în prezent planuri de combatere a rezistenței.**
- **Elucidarea modului de acțiune al unui compus antifungic potențial poate scurta timpul până la obținerea medicamentului ideal**.
- Moleculele antifungice mici obținute din **produse naturale** pot reprezenta **modele structurale** pentru studiul **relației structură-activitate**, oferind astfel mai multe informații pentru **potențialii agenți antifungici noi**

Limitările medicamentelor de azi:

- biodisponibilizare nesatisfăcătoare
- efect limitat
- citotoxicitate potențial mare
- tratamente lungi și frecvente

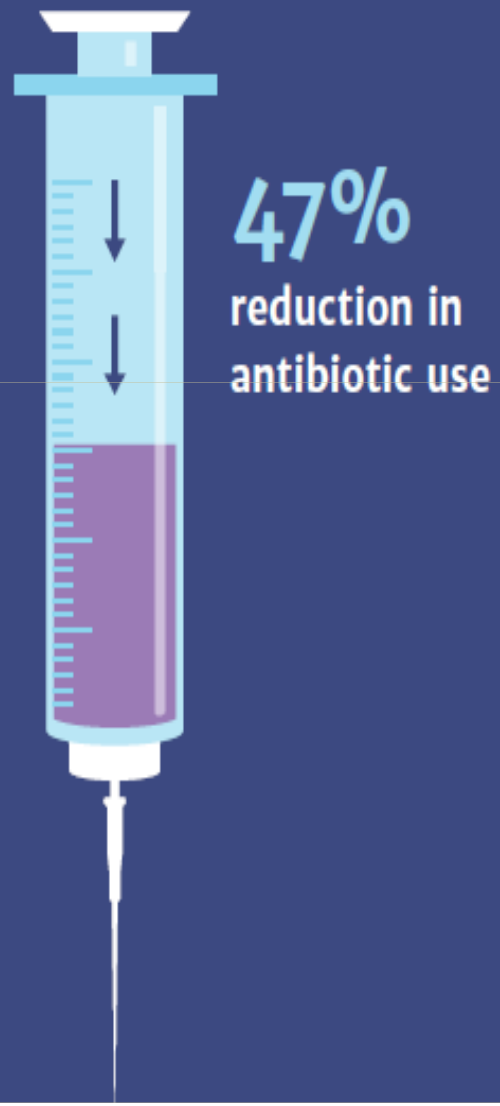
În acest context sunt necesare caracteristici specifice care pot reduce morbiditatea și mortalitatea!

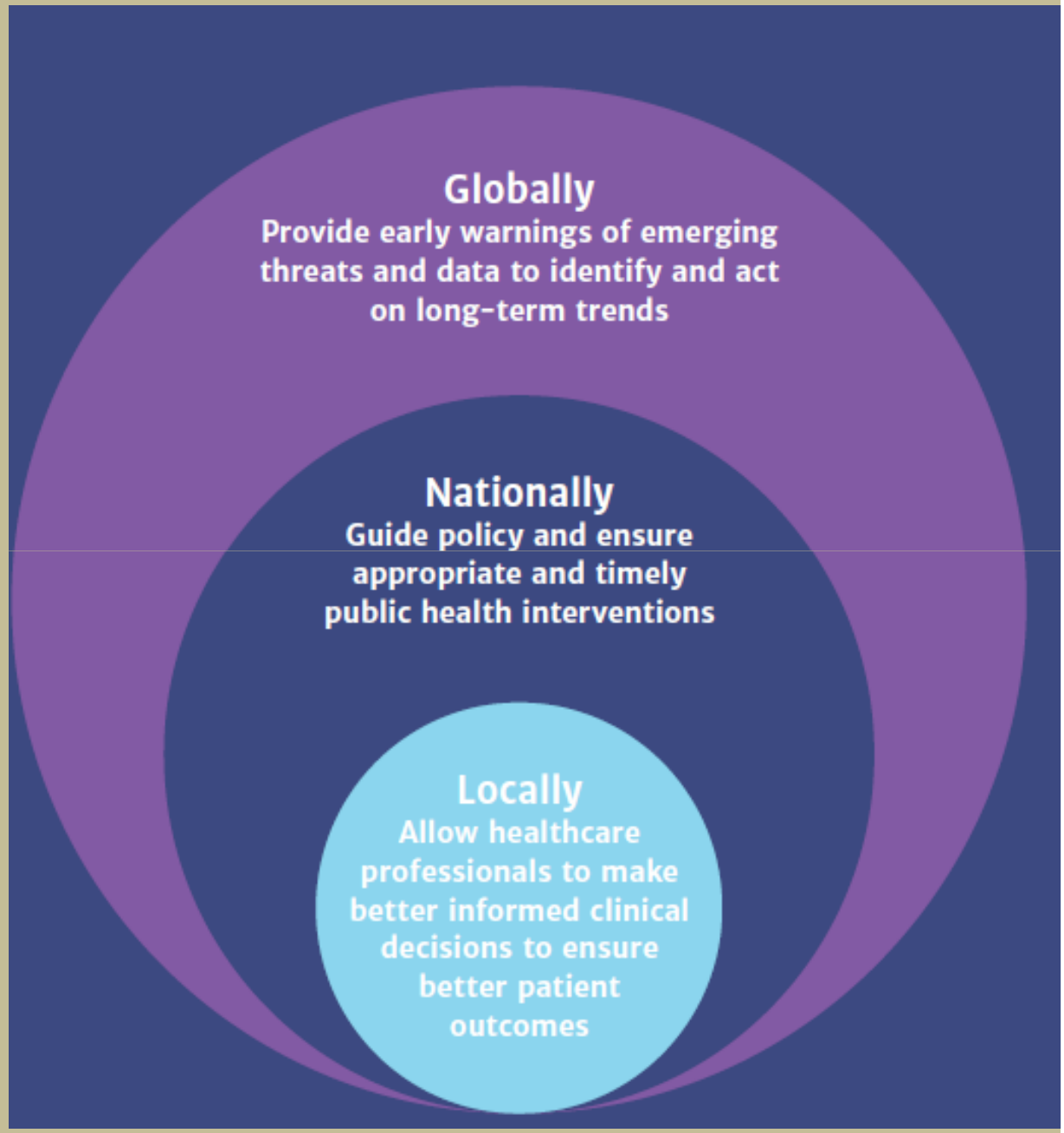
Tackling antimicrobial resistance requires a wide range of approaches and developing alternatives to antibiotics, in humans and animals, is critical to the fight.

Vaccines have a vital role to play in combating drug resistance, by preventing infections in the first place

Sally Davies,
Chief Medical Officer for England

Universal coverage by a pneumococcal conjugate vaccine could potentially avert 11.4 million days of antibiotic use per year in children younger than five, roughly a 47% reduction in the amount of antibiotics used for pneumonia cases caused by *S. pneumoniae*.





Sursa: https://amr-review.org/sites/default/files/160518_Final%20paper_with%20cover.pdf

Alternative atractive la vaccinuri, ar mai putea fi:

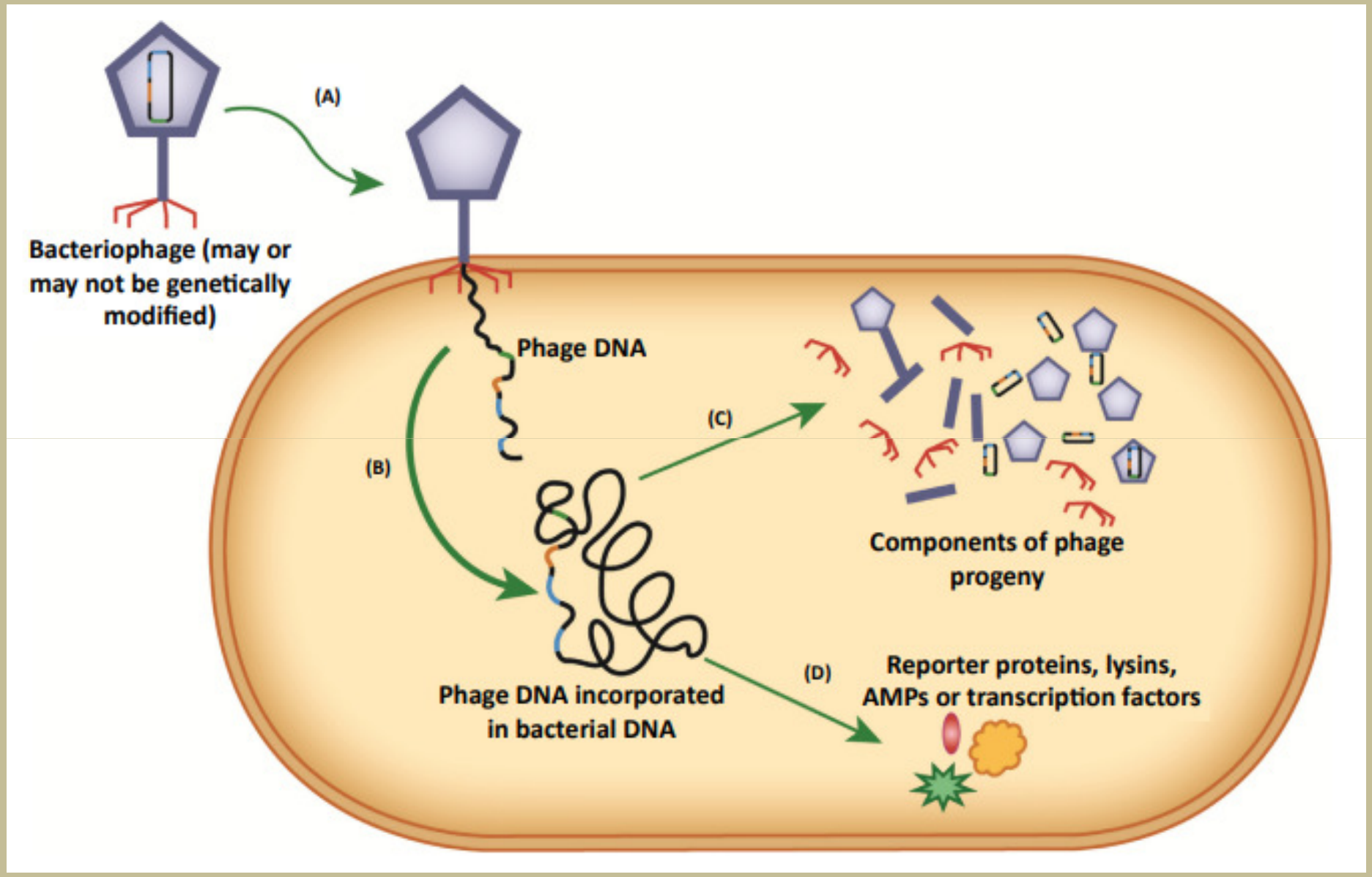
- **anticorpii patogeni specifici,**
- **agenții imunomodulatori,**
- **bacteriofagii,**
- **peptidele antimicrobiene și**
- **produsele pro-, pre- sau simbiotice.**

Exemple de reducere a consumului de antibiotice:

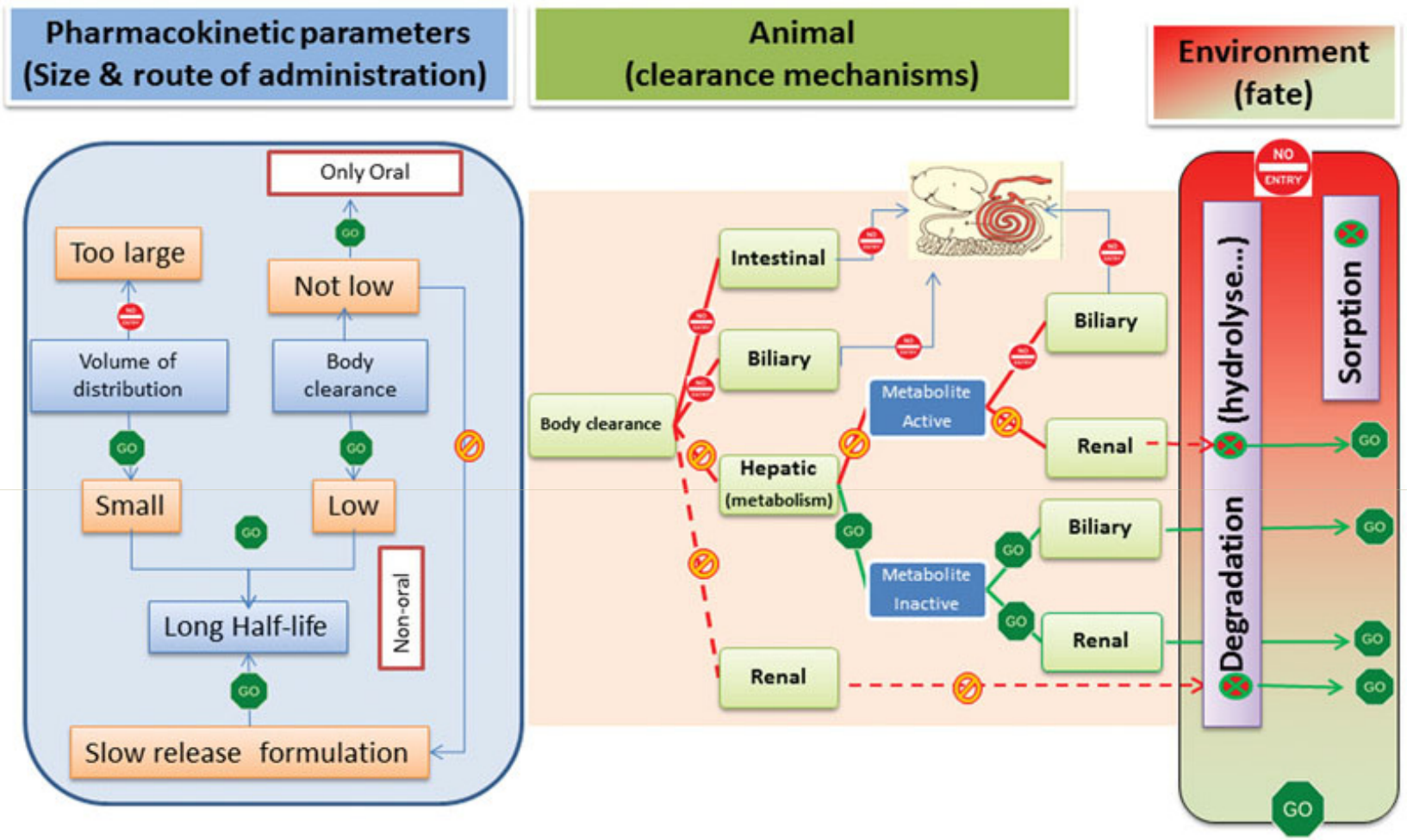
- un vaccin eficient pentru prevenirea furunculozei în Norvegia (Midtlyng et al., 2011).
- utilizarea unui vaccin pentru a preveni enterita produsă de Lawsonia intracellularis la porci.

Bacteriofagii

- **Bacteriofagii sau virusurile care „mănâncă” bacteriile** au fost folosiți pentru a trata animalele infectate înainte ca antibioticele convenționale să fie utilizate în același scop
- Aceștia se fixează pe suprafața celulei bacteriene și apoi injectează materialul genetic în citoplasma bacteriană.
- Acesta preia ulterior controlul celulelor gazdă, ceea ce duce la sinteza componentelor fagului și la asamblarea de noi fagi în bacteriile infectate.
- Se produce liza bacteriană și eliberarea descendenților fagului care pot începe un al doilea ciclu de infecție.
- Bacteriofagii - abordare alternativă, dar selectivă, pentru a ținti bacteriile patogene și a **„ ignora ”** bacteriilor comensale

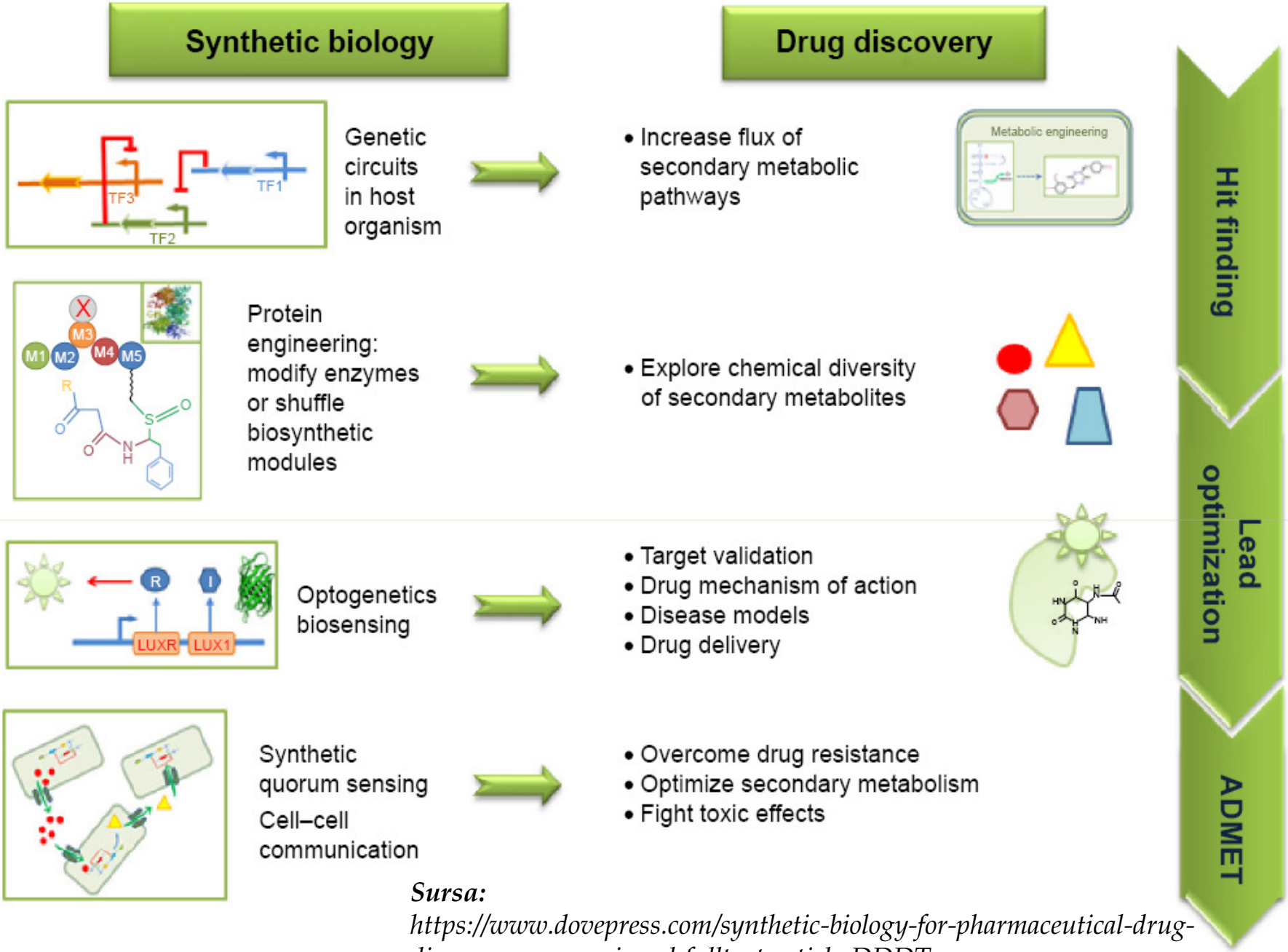

(A)
Bacteriophage (may or may not be genetically modified)
Phage DNA
(B)
(C)
Components of phage progeny
Phage DNA incorporated in bacterial DNA
(D)
Reporter proteins, lysins, AMPs or transcription factors

Medicamentele eco-green...



Medicamentele lipofile sunt selecționate în M.V. din motivele:

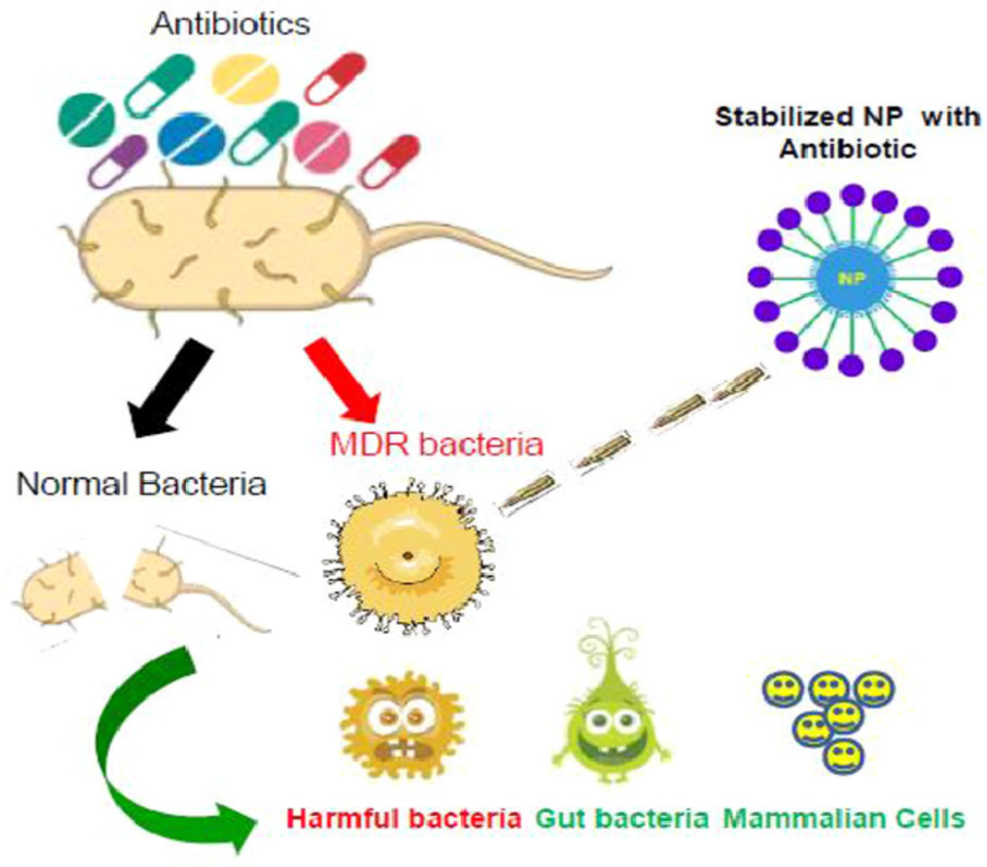
- necesitatea retardării și corelarea cu t 1/2 .
- dezvoltarea de noi farmaconi potenți și eco-green: ceftarolina, telavancina, si dalbavancina.



Sursa:
https://www.dovepress.com/synthetic-biology-for-pharmaceutical-drug-discovery-peer-reviewed-fulltext-article-DDDT

Figure 2 Synthetic biology tools in various steps of drug discovery.
Abbreviations: ADMET, absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity; TF, transcription factor.

Alte alternative viabile



Nanobiotehnologia

a) terapie invazivă minimală
b) funcții cu densitate înaltă
c) concentrații în volume foarte mici

Nano-dispozitivele

- *maximizează activitatea terapeutică*
- *minimizează efectele toxice secundare*
- *țintesc celule specifice și nu țesuturi*

Nanoparticulele de argint – conjugarea cu diferite substanțe antifungice

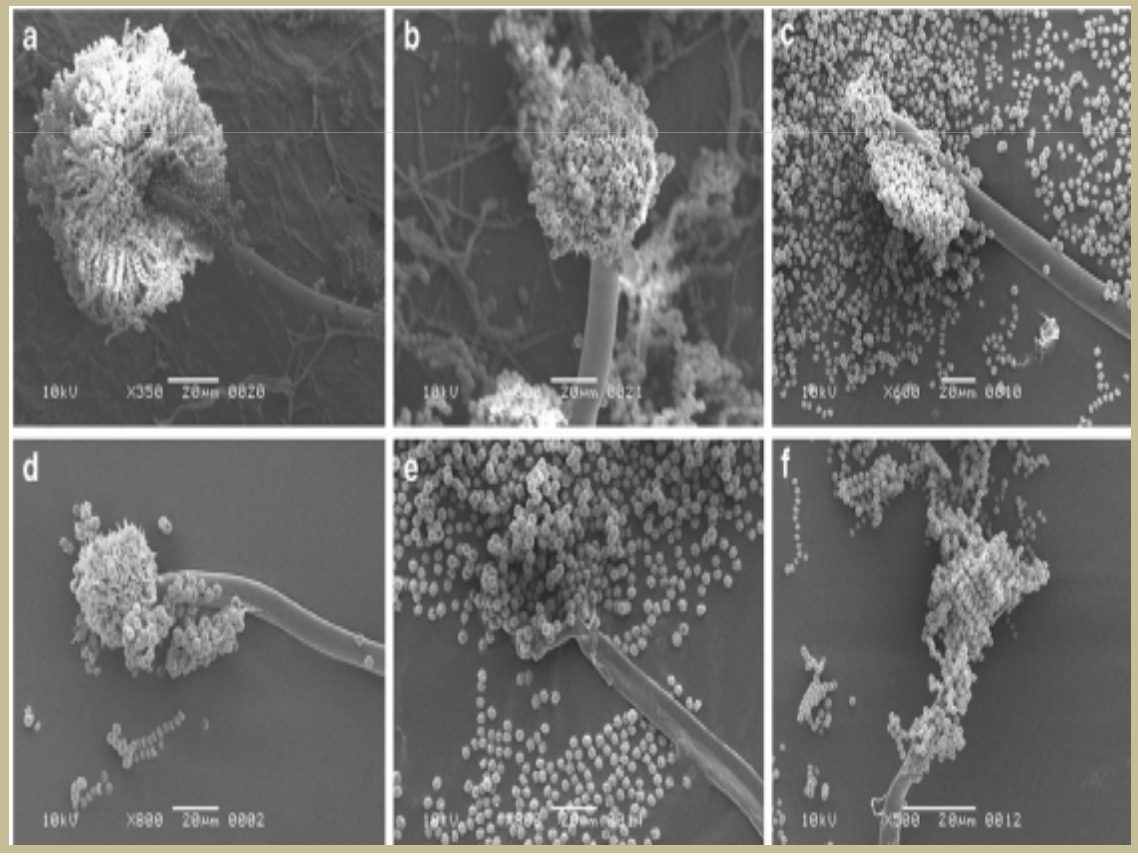
- **Nanoparticulele de argint (NA)** au fost dezvoltate recent ca o nouă clasă de agenți antimicrobieni, împotriva a numeroase microorganisme patogene
- **Nanoparticulele - purtătoare eficiente de medicamente - asociate cu creșterea biodisponibilității medicamentelor și minimizarea inhibării acțiunii unor substanțe**

- Nanoparticulele de argint- în **terapie singulară** prezintă - un **spectru larg de activitate** antimicrobiană, incluzând: *Candida albicans, C. tropicalis, C. parapsilosis, C. glabrata, Trichophyton rubrum* (), *Trichosporon asahii, Aspergillus niger, Rhizoctonia solani, Curvularia lunata, Colletotrichum spp.* și *Fusarium spp.*

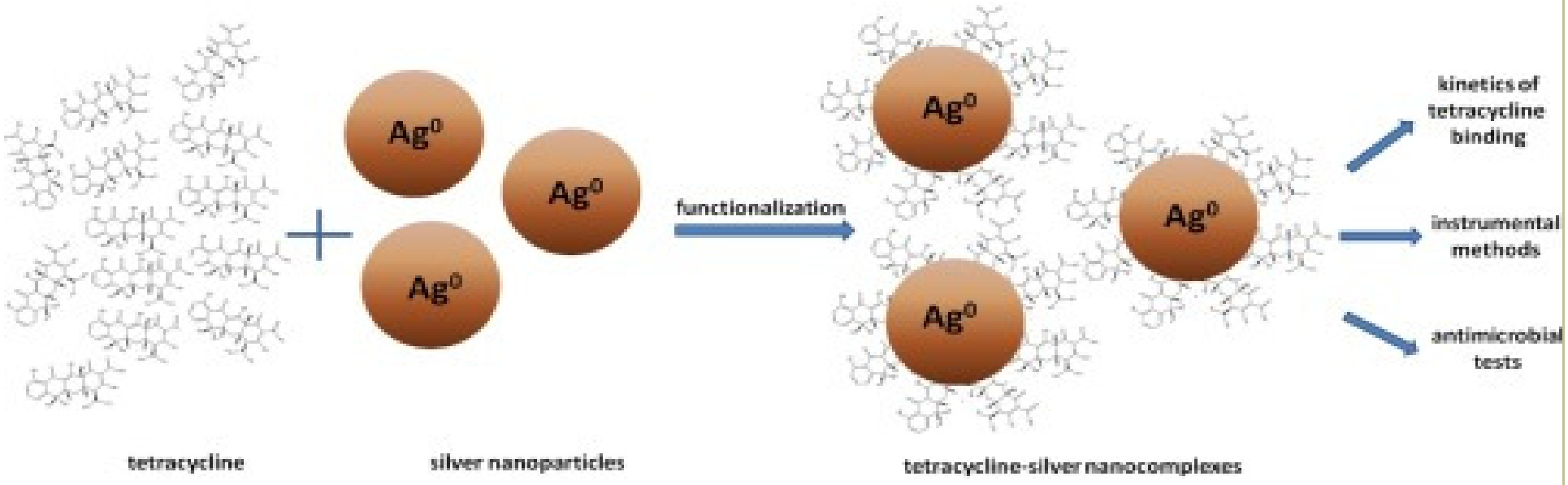
- Nanoparticulele de argint **conjugate cu nistatin și flucitozină**:

- **efectele fungistatice asupra *Candida albicans*** ale **nistatinului și flucitozinei** sunt de numai 30%, respectiv 33%, comparativ cu un procent de 50%, respectiv 62% când cele **două substanțe antifungice au fost conjugate cu NA**, la aceeași concentrație. Aceste date indică faptul că o conjugare cu NA îmbunătățește potența antifungică a diferitelor substanțe asupra C. albicans

- **În tratamentul asupra *A. brasiliensis* cu nistatină și nistatină-NA se observă o deformare ușoară până la severă, respectiv o suprafață neregulată (Figura b-c), în tratamentul cu flucitozină, a suferit modificări în comparație cu controlul (Figura d). Complexul flucitozină-NA a condus la o modificare morfologică severă (Figura e), iar combinația de nistatin-NA și flucitozină-NA în amestec 1: 1, a distrus complet celulele fungice (Figura f)**



Nanoparticulele de argint, pe lângă conjugarea cu diferite substanțe active, sunt încorporate în îmbrăcăminte, încălțăminte, vopsele, pansamente pentru răni, diferite aparate, produse cosmetice și materiale plastice, datorită proprietăților antibacteriene.

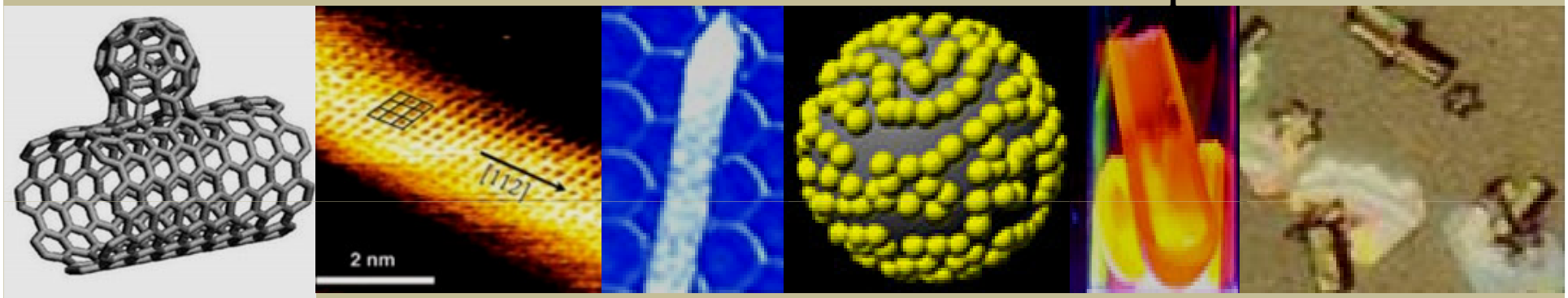


	Ag-CGG	Ag-CGG-tetracycline
Pseudomonas aeruginosa	10 ± 2	13 ± 2
Escherichia coli	9 ± 2	11 ± 2
Klebsiella pneumoniae	10 ± 1	12 ± 1
Staphylococcus aureus	7 ± 0	11 ± 1
Staphylococcus epidermidis	12 ± 0	15 ± 0

Zonele de inhibiție (mm) cauzat de nanoparticule de argint CGG 11n funcționalizate și nefuncționalizate cu tetraciclină

Nano-dispozitivele

Nanotubii **Nanofirele** **Nanostructurile** **Nanosferele** **Nanoporii** **Fulerenele**

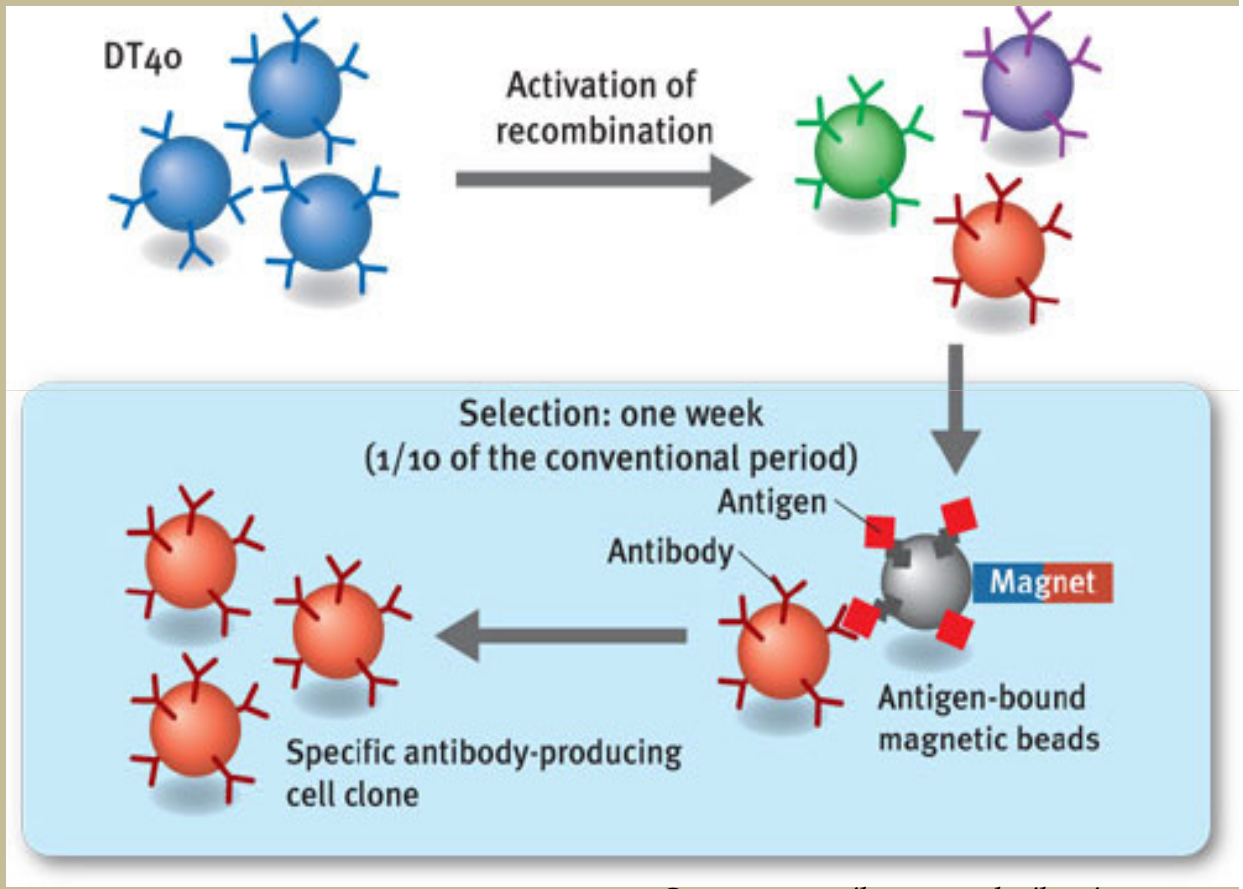


tot mai sofisticate datorită studiilor la nivel molecular acest fapt permițând acestora să:

1. țintească,
2. identifice,
3. elibereze precis substanța activă,
4. monitorizeze eficacitatea terapeutică în timp real.

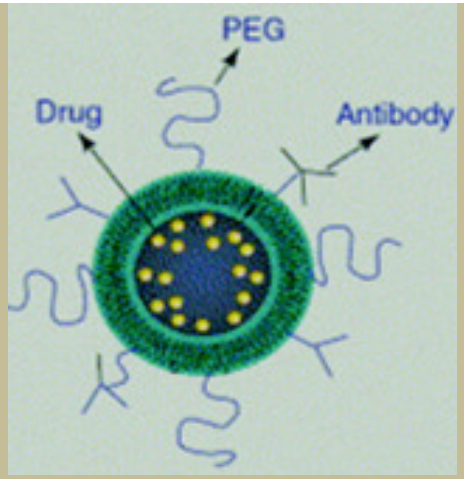
ADLib

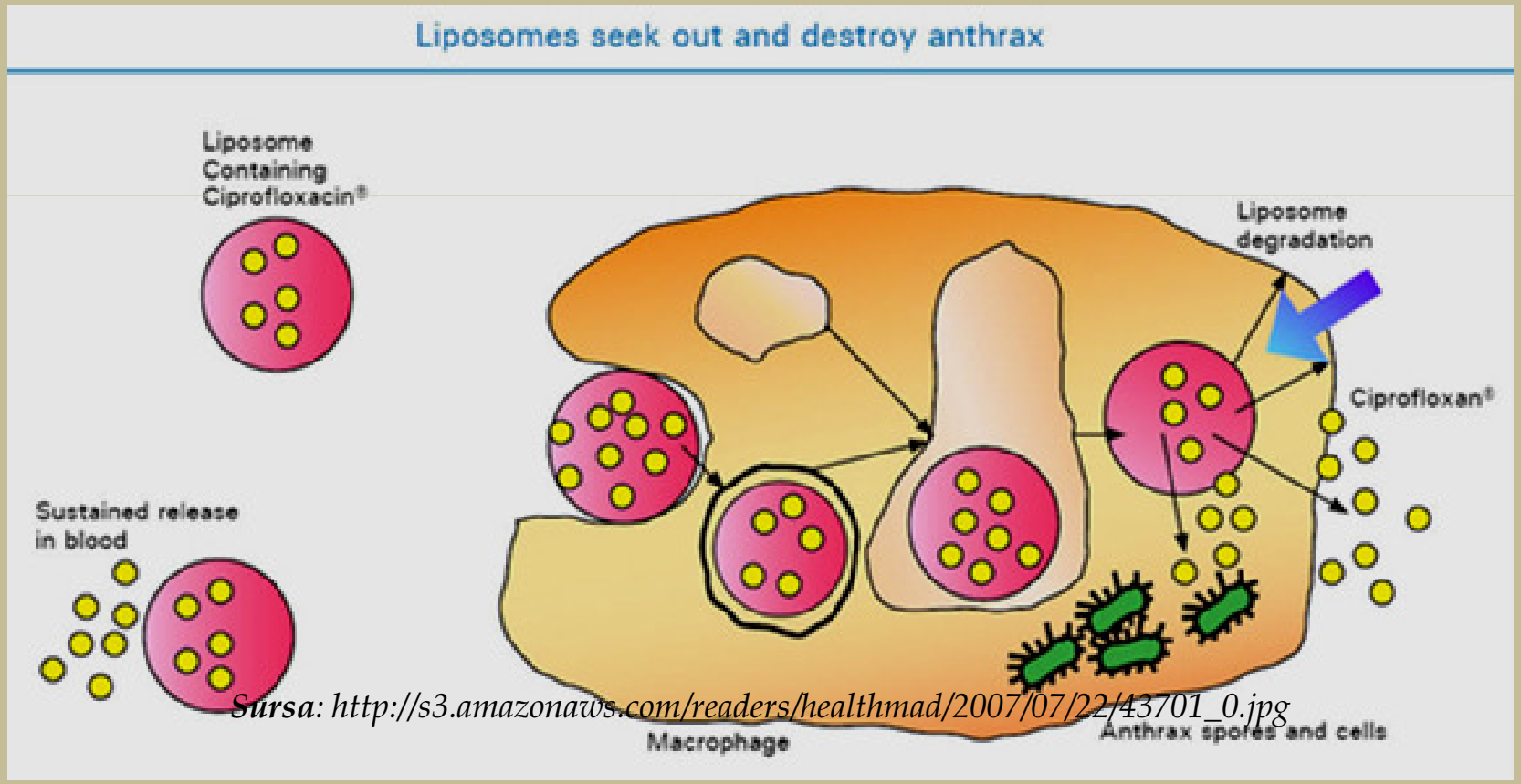
Cale nouă de a produce anticorpi!
Se deschide calea aplicatiilor în domeniul produselor de diagnostic în vederea **tratamentelor personalizate**.



Sursa: *www.rikenresearch.riken.jpg*

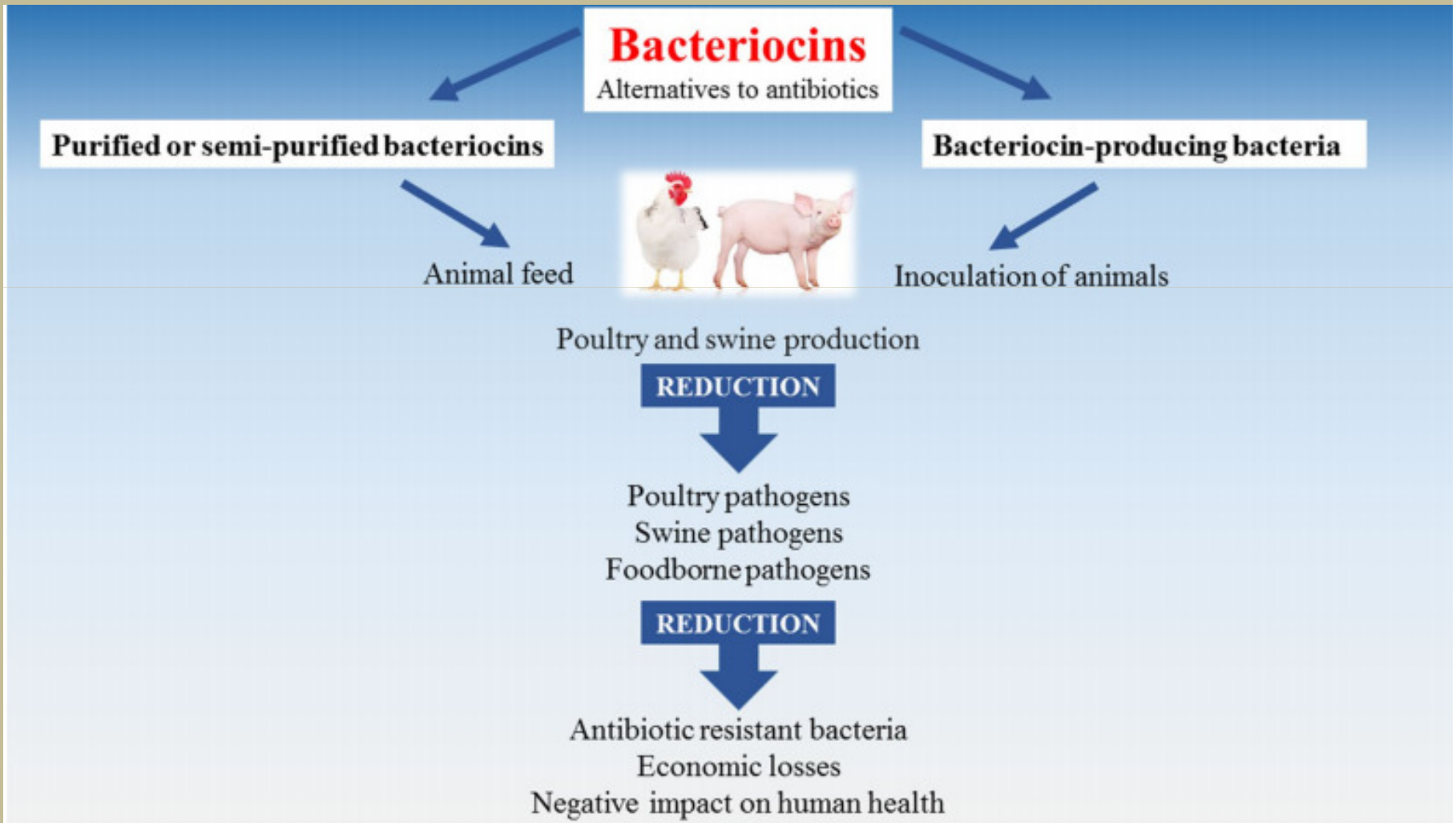
Lipozomii



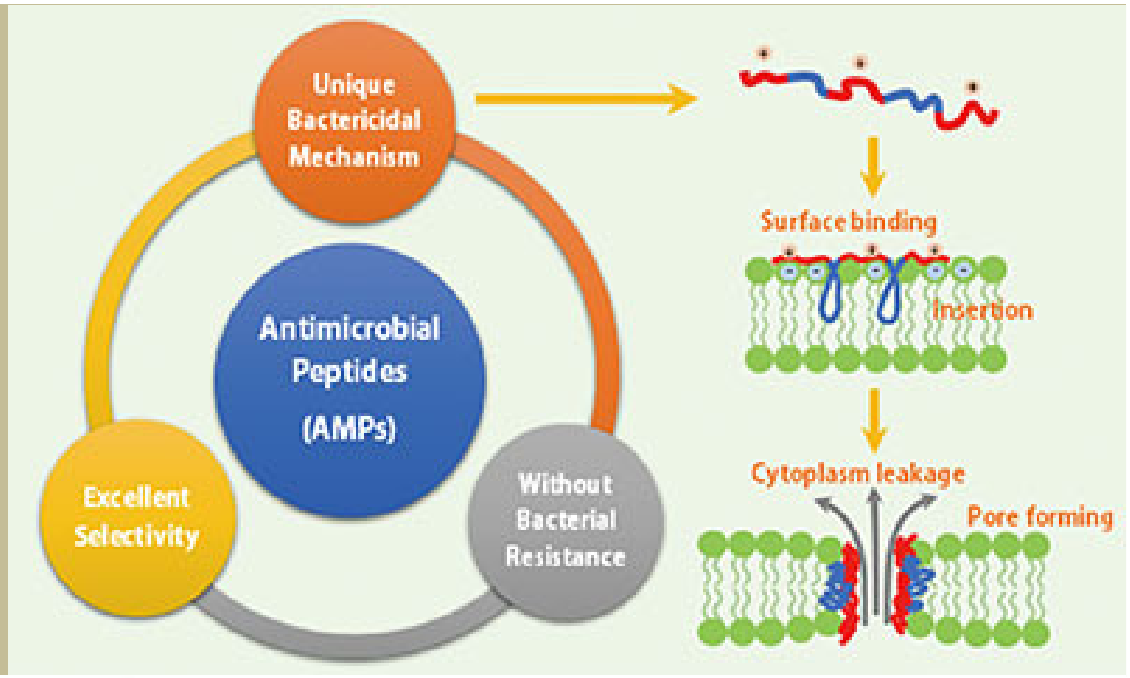


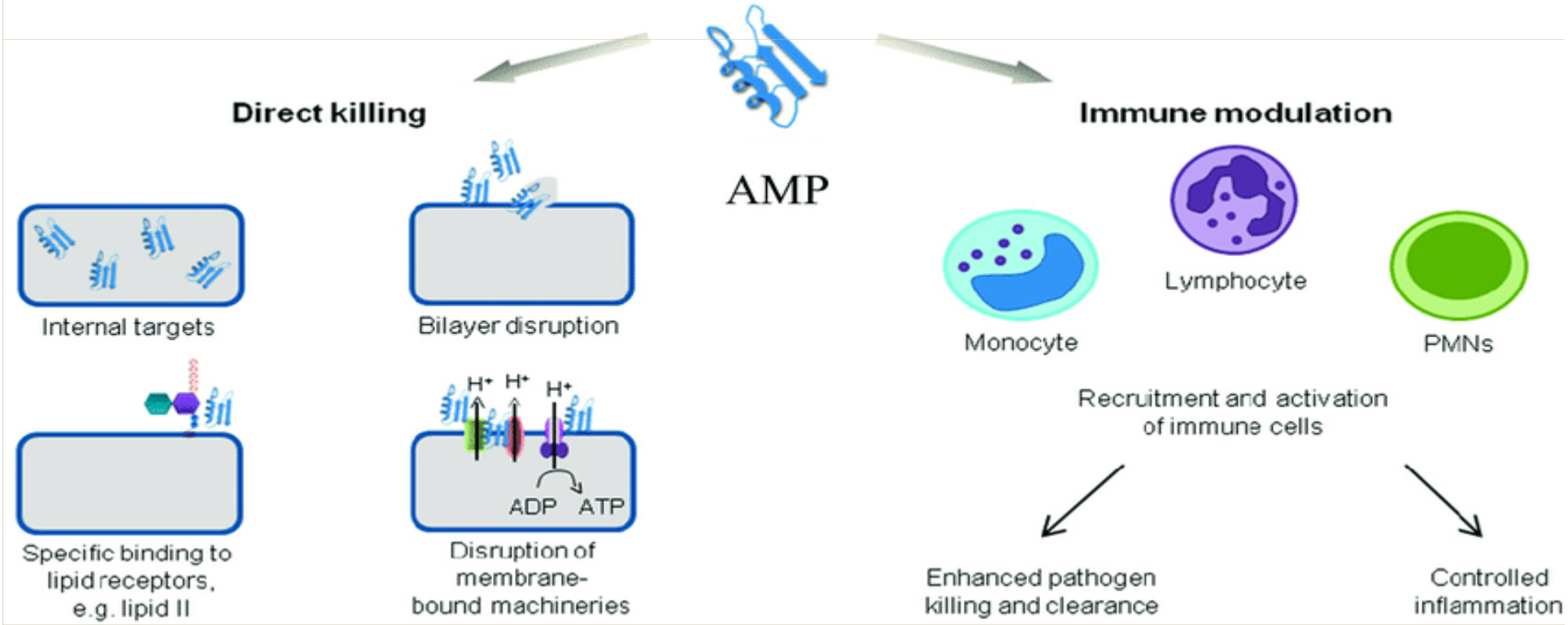
Sursa: *http://s3.amazonaws.com/readers/healthmad/2007/07/22/43701_0.jpg*

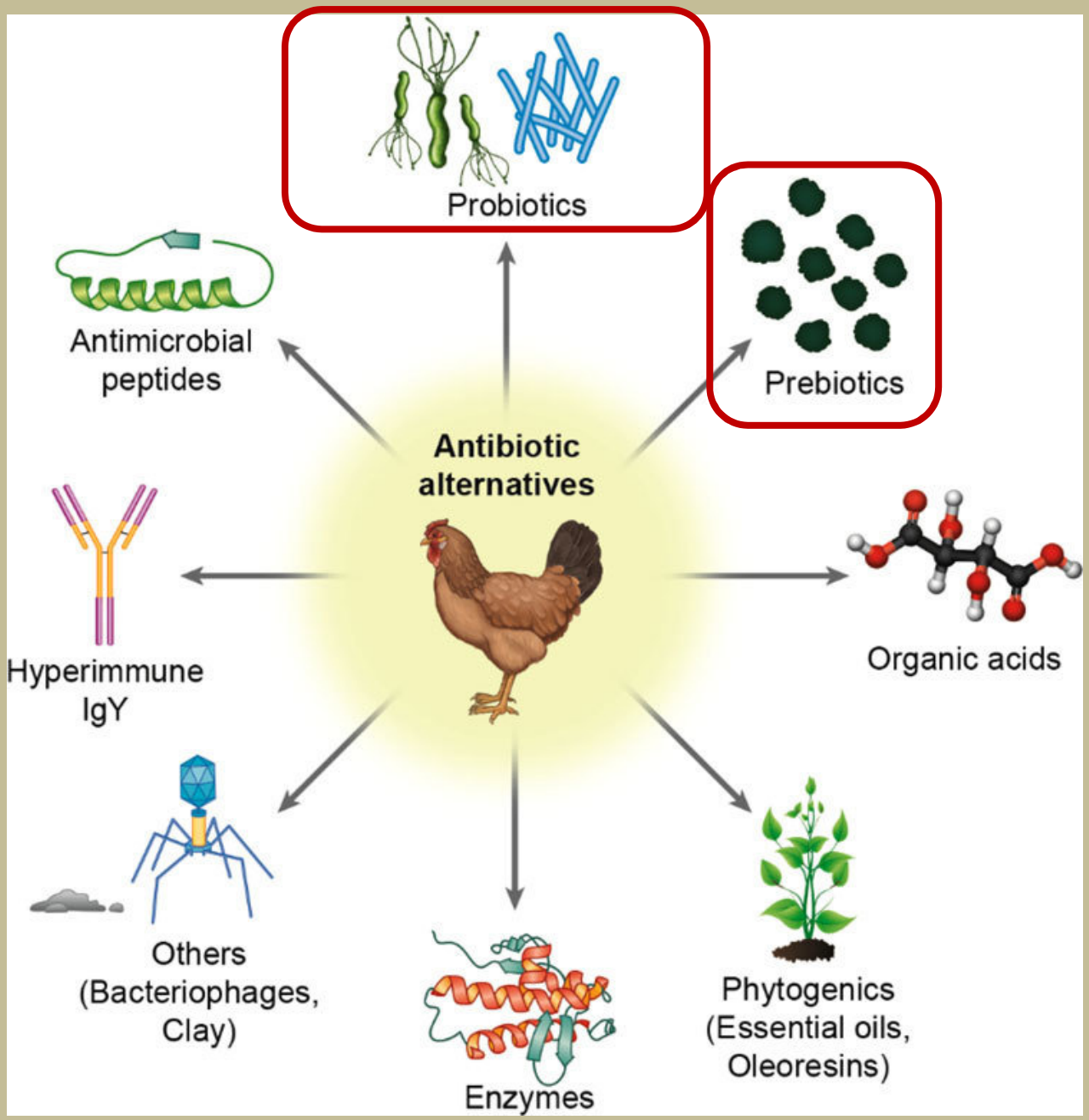
Bacteriocinele



Peptide antimicrobiene

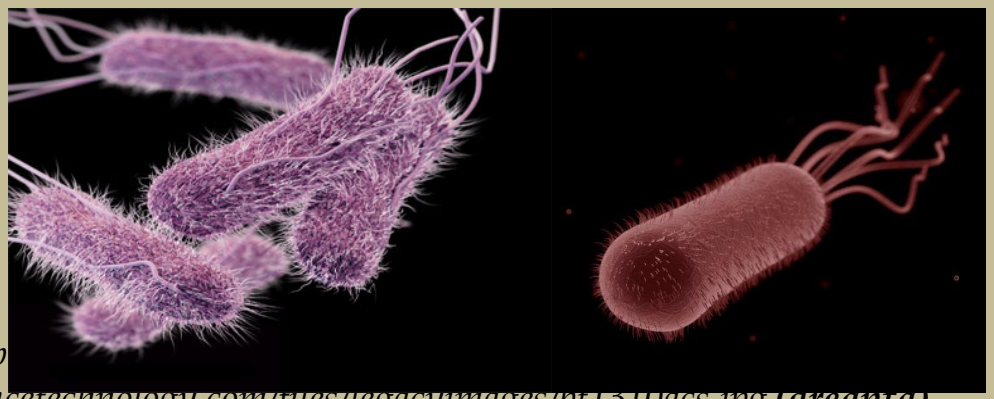





Probiotics
Prebiotics
Antimicrobial peptides
Antibiotic alternatives
Hyperimmune IgY
Organic acids
Others (Bacteriophages, Clay)
Enzymes
Phytogenics (Essential oils, Oleoresins)

Genetica

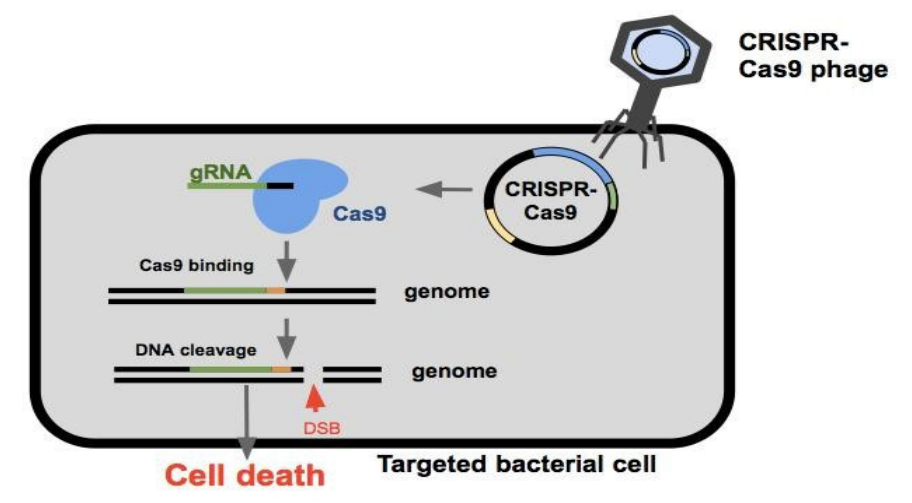
Cercetătorii au reprogramat genetic un serotip de E. coli. Acesta poate ucide chiar și alte grupuri de bacterii responsabile pentru infecțiile greu de tratat prezente în: plămâni, vezică urinară ori de pe dispozitivele medicale implantate.



Reprogramarea genetică a E. coli

Sursa imagini: http://sa-mcp.s3.amazonaws.com/up
http://www.bioscienceteechnology.com/sites/bioscienceteechnology.com/files/legacyimages/bt1310acs.jpg ***(adaptă)***

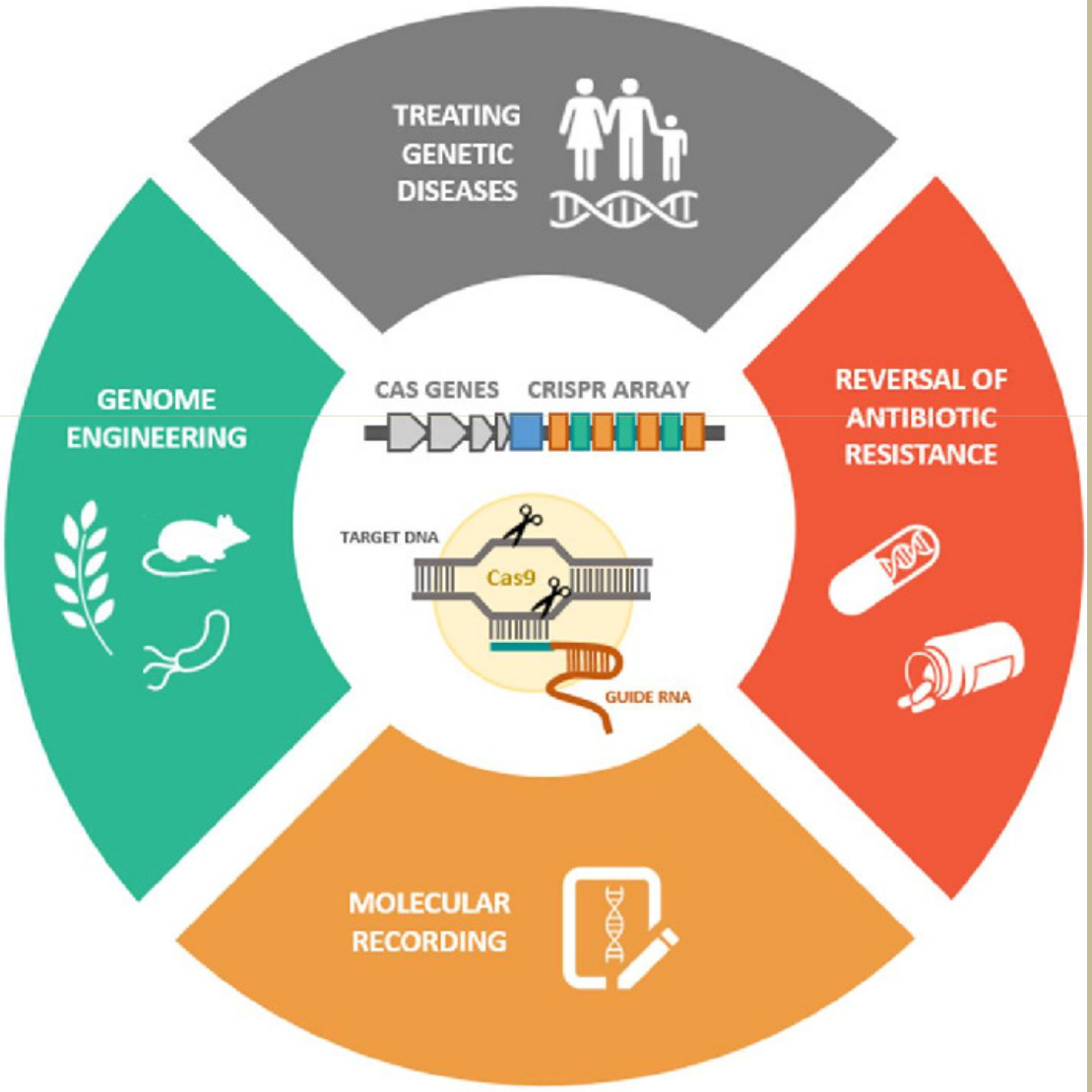
CRISPR-Cas9



- Cercetătorii au conceput o **plasmidă** care poate elimina o genă de rezistență la antibiotice din bacteria ***Enterococcus faecalis***, ceea ce ar putea duce la noi metode de combatere a rezistenței la antibiotice.
- Mecanismul folosit pentru **eliminarea genelor de rezistență la antibiotice** este proteina specializată, **CRISPR-Cas9 care poate** face **" tăieri "** aproape oriunde la nivelul **ADN**.
- Alături de CRISPR-Cas9, s-au adăugat secvențe de ARN omologe ADN-ului din gena de rezistență la antibiotice la plasmida proiectată.
- **Aceste ARN-uri ghidează CRISPR-Cas9 pentru a face reducerile în locurile potrivite.**

CRISPR-Cas system

Key elements and applications



Principalele alternative - avantajele și dezavantajele acestora

	Avantaje	Posibile dezavantaje
Bacteriofagi	• Produse farmaceutice autoreplicante • Selectiv pentru tulpinile specifice de bacterii • Potrivit ingineriei genetice	• Imunogenitatea • Farmacocinetica • Eliberarea de endotoxine bacteriene • Dezvoltarea rezistenței
Lizină	• Potrivit ingineriei genetice • Selectiv pentru tulpinile specifice de bacterii • Nu este predispusă la dezvoltarea rezistenței	• Producerea • Insuficiente date
CRISPR/Cas9	• Poate fi reglat pentru o varietate de aplicații antimicrobiene • Scăderea consumului de antibiotice • Specificitate pentru tulpinile patogene	• Producție pe scară largă scumpă • Toxicitate
Peptide antimicrobiene	• Nu este predispus la dezvoltarea rezistenței • Activitatea cu spectru larg	• Producție pe scară largă scumpă • Sensibile la proteoliză • Toxicitate
Bacteriocină	• Specificitate pentru tulpinile patogene de bacterii • Rezistența la căldură și la UV	• Producție pe scară largă scumpă • Sensibile la proteoliză
SMAMPsa (Peptide antimicrobiene sintetice)	• Ușor de sintetizat • Nu este predispus la dezvoltarea rezistenței • Activitatea cu spectru larg	• Toxicitate • Calea de administrare
Probiotice	• Disponibilitate ușoară	• Folosit mai ales pentru infecții intestinale
Anticorpi	• Selectiv pentru tulpinile specifice de bacterii • Microflora protejată	• Cost ridicat de producție • Perioada de valabilitate

- **Plantele** reprezintă o sursă primară pentru obținerea de produse medicinale noi (Hostettman, 1999).
- Principii activi ai plantelor au diverse acțiuni farmacodinamice, cum ar fi antiinflamatoare, anticarcinogene și anti-aterosclerotice, **antibacteriene, antifungice, antivirale**, antimutagene și antialergice (Ikken și colab., 1999; Noguchi și colab., 1999; Mishra și colab., 2009)

Plante și produsele naturale cu activitate antifungică

- Utilizarea plantelor medicinale în tratamentul afecțiunilor cutanate, inclusiv asupra infecțiilor micotice, este o practică veche în multe părți ale lumii
- Această utilizare a fost susținută de izolarea compușilor antifungici activi din extractele plantelor
- Se cunoaște faptul că uleiurile esențiale ale multor plante au activitate atât antibacteriană cât și antifungică
- *Caryophyllus aromaticus* (arborele ce produce cunoscutele „cuișoare”) este renumit pentru uleiul volatil bogat în **eugenol** cu certe proprietăți antibacteriene și antifungice destinat tratamentului dermatofitozelor la animale

- O altă specie recunoscută pentru **proprietățile antimicrobiene** este *Malaleuca alternifolia*, ce produce un ulei volatil (tea tree oil) bogat în terpineol, terpinen și cineol, cu spectru de acțiune atât bacterian cât și fungic larg
- gel cu 5% *alternifolia* (Tea Tree Anti tratamentului topic al der

- **Usturoiul *(Allium sativum)***

prezintă activitate **antibacteriană și antifungică**, asfel uleiurile esențiale, extractele în apă și etanol inhibă creșterea *in vitro* a speciilor

Bacillus spp., Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pasteurella multocida, Proteus, Pseudomonas aeruginosa, Candida spp.* și *Cryptocococcus spp

- Studiu realizat de Hassan și Hany s-a demonstrat **activitatea antifungică a gelului de *Aloe vera* asupra dermatofiților, respectiv *Tricophyton verrucosum***
- prin aplicări topice zilnice, rezultatele fiind comparate cu efectele aplicării unui unguent cu 10% iod pentru 20 de zile.
- După 6 zile de tratament cu gelul de *Aloe vera* activitatea dermatofiților a fost redusă semnificativ.
- Leziunile au început să scadă treptat și, în două săptămâni, părul a început să crească.
- În grupul tratat cu iod, leziunile s-au retras după zece zile de tratament și regresia părului a început după două săptămâni.
- În termen de o lună a existat o recuperare completă în ambele grupuri tratate

Plante	Fungi
Kaempferia galanga (ghimbir aromat)	*Saprolignea parasitica (pești)*
Salvia texana	*Aspergillus fumigatus, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Candida albicans*
Nigella sativa	*Dermatofiți*
Melaleuca alternifolia (arbore de ceai)	*Aspergillus spp., Dermatofiți Candida albicans*
Daucus carota (morcov)	*Cryptococcus neoformans, Dermatofiți*
Anacardium occidentale (arborele de caju)	*Cryptococcus neoformans*
Caryophyllus aromaticus	*Dermatofiți Candidoze*
Centella asiatica	*Candida albicans, Aspergillus flavus, Aspergillus niger*
Aloe vera	*Trichophyton verrucosum*
Hypericum perforatum (Sunătoare)	*Dermatofiți , Malassezia furfur, Candida albicans*
Mentha spicata	*T.rubrum M. gypseum*
Rosmarinus officinalis	*Microsporum canis*
Artemisia sieberi	*T. rubrum, T. verrucosum, T. schoenleinii, T. mentagrophytes,*

Propolisul

- Principalele componente: rășinile și balsamurile (50 - 55%), ceara (25 -35%), uleiurile aromate și eterice (10%), polenul (5%) și substanțe organice și minerale (5%)
- Activitatea biologică: direct legată de conținutul de fenoli și flavonoide, acesta este utilizat pe scară largă în industria farmaceutică, cosmetică, veterinară și alimentară
- Pe lângă acţiunea antibacteriană, antivirală, citotoxică, imunomodulatoare şi anestezică, propolisul manifestă şi importante proprietăţi antifungice, mai ales față de speciile genului

Plante cu activitate antibacteriană

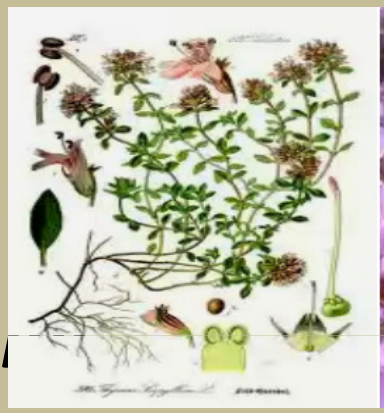
- Angelica (Angelica archang

- Anghinarea (Cynara scolyı
  carduncul us L.)

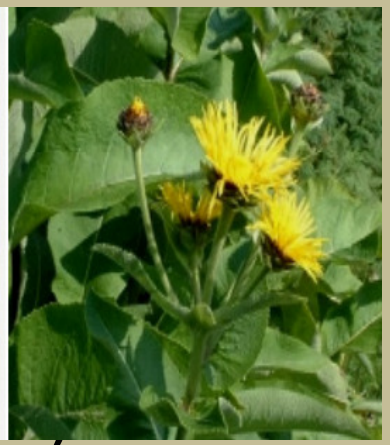
- Arnica (Arnica montana L.)

- Cimbrișorul (Thymus serpyl

antibioticul săracu

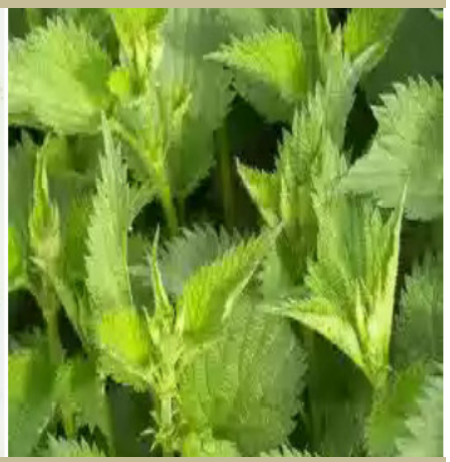


- **Iarba mare (omanul)** (Inula h



- **Schinelul** (Cnicus benedictus L.

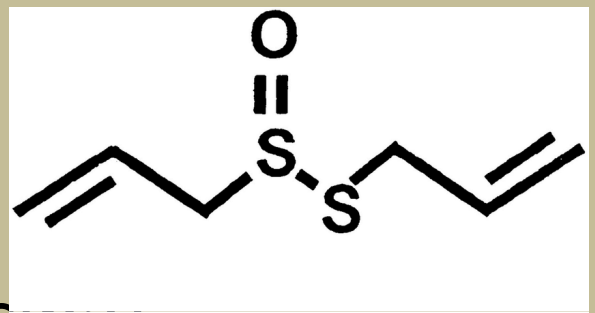
- **Coada calului** (Equisetum arver



- **Urzica** (Urtica dioica L., Urtica urens L.)

- **Cuișoare** (Syzygium aromaticum)

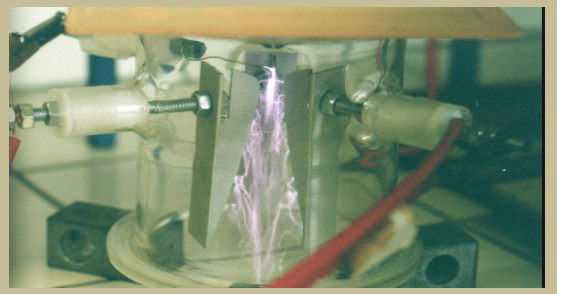
- **Usturoiul** (alic

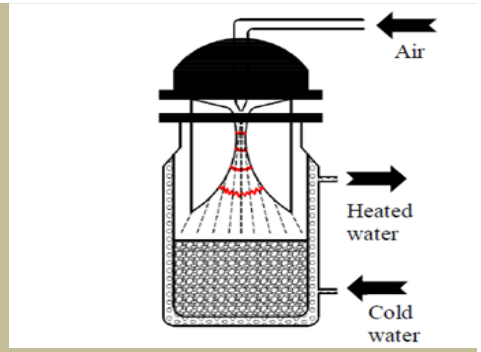


Allicin

- **Salvia**
- **Rozmarinul**

Apa activată cu plasmă rece (PAW)





- **Apa activată cu plasmă rece sau non-termică** face parte din o nouă generație de antimicrobieni, extrem de eficienți împotriva microorganismelor de interes medical;
- Plasma rece poate fi produsă de diferite tipuri de **descărcări electrice de laborator** și se încadrează în categoria **procedeelor de oxidare avansată**

- **Tehnologia Glid Arc- avantaje** cum ar fi:

timpul de activare (20 min) este mult mai mic decât prin alte tehnologii
eficiența activării este mult mai bună
implementarea sa practică este relativ ușoară

PAW +PAH

- Poate să inactiveze eficient celule microbiene ca de exemplu: ***Hafnia alvei, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Leuconostoc mesenteroides* și *Saccharomyces cerevisiae***

- Activitate antimicrobiană a PAW împotriva a patru tipuri de tulpini bacteriene ***E. coli, K. pneumoniae, Acinetobacter baumannii* și *P. aeruginosa***.

După **20 de minute de tratament reduce** încărcătura microbiană a *E. coli și A. baumannii*. După **30 de minute de contact cu PAW** determină inactivarea completă a celor patru tulpini.

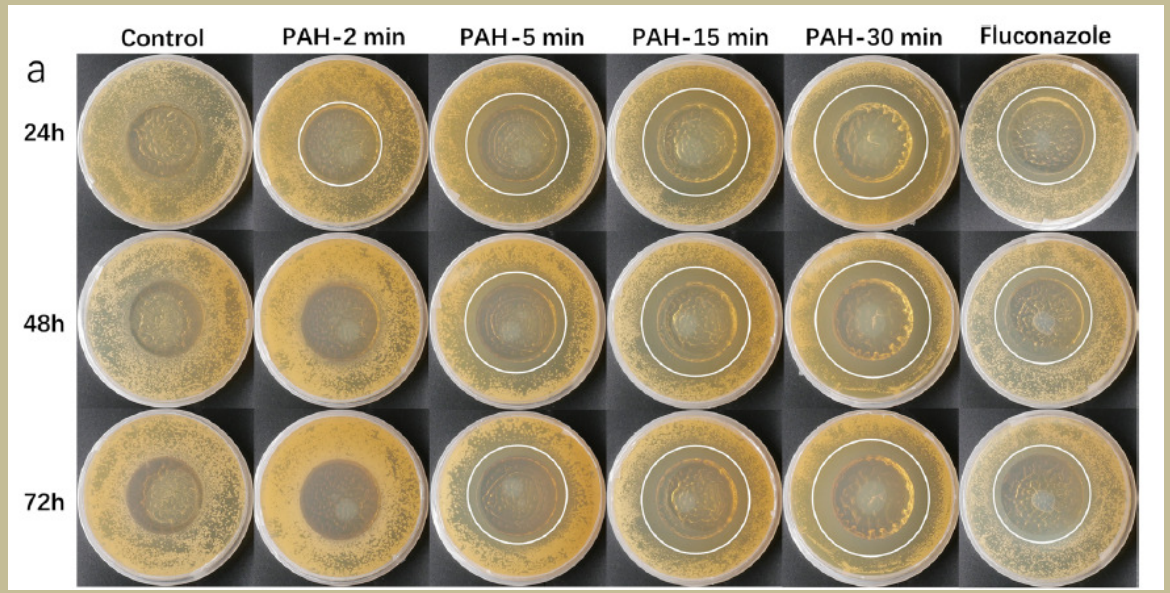
Grupările prezente în plasma reactorului, în principal radicalii· **OH și NO (oxizii de azot)** · când aerul umed este gazul de lucru, sunt precursori de H2O2, HNO3 (acid azotic) și HNO2(acid azotos) în apă.

un efect de acidificare temporară a soluției activate, ajungându-se până la un ***p*H < 3,5**,

peroxid de hidrogen (H2O2), grupări nitrați (NO3) și **nitriți (NO2),** responsabili de degradarea peretelui bacterian, prin efectul oxidant asupra proteinelor, lipidelor și ADN-ului

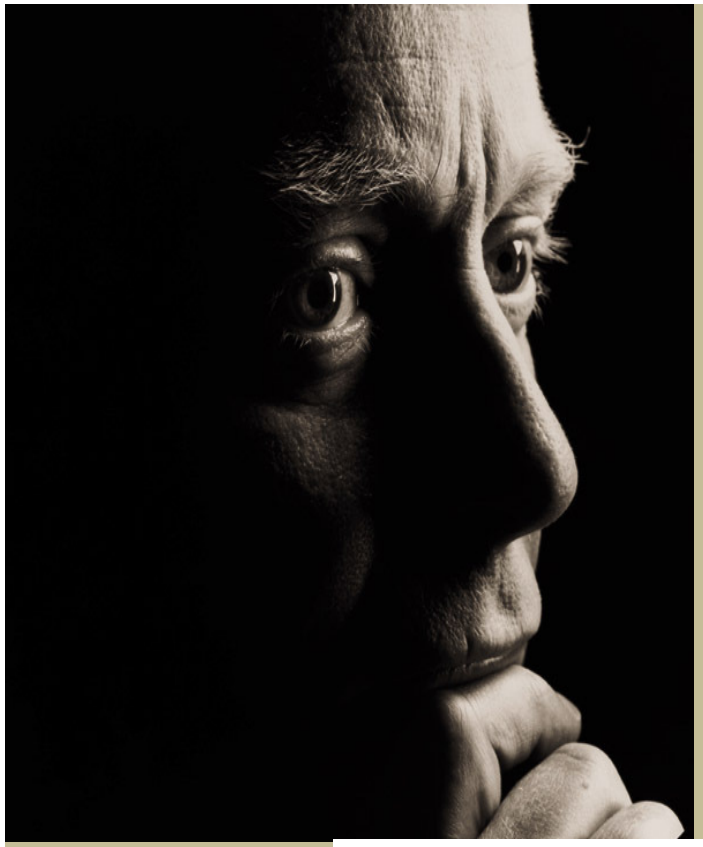
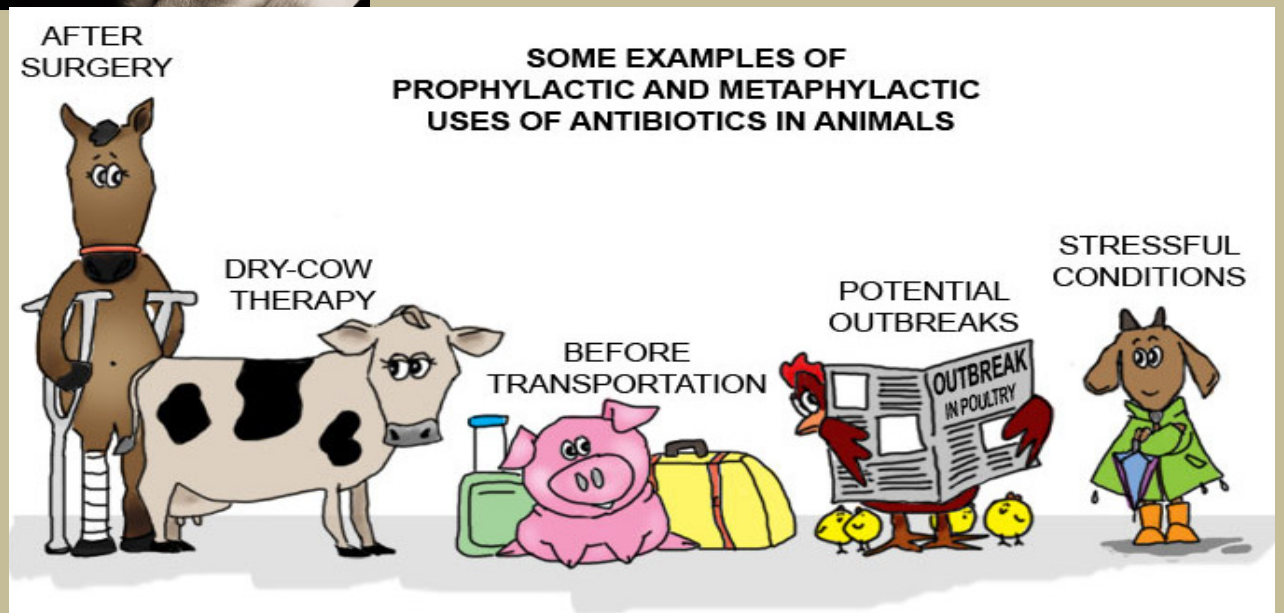
Durata de activitate chimică a acestor compuși este de **până la 48 de ore** prin intermediul unor reacții secundare de difuzie controlată pe care le produc și de aceea tratamentul cu apă activată este eficient și după întreruperea producerii plasmei, deci fără un consum suplimentar de energie, fenomen numit TPDR (reacții post-descărcare în timp).

- Într-un studiu:
- S-a încercat o formulare care să încorporeze PAW, sub formă de **hidrogel (pe bază de acrilamidă)** și s-a **urmărit eficacitatea acestui hidrogel activat cu plasmă non-termică**, și posibilitatea folosirii acestuia ca un **nou produs** cu activitate antifungică
- Rezultatele au relevat că **abilitățile antifungice ale PAH-15 min și PAH-30 min** au fost mai bune decât cea a grupului fluconazol.
- Acest lucru sugerează că **PAH are capacități de inhibare mai bune decât unii agenți antifungici tradiționali**



Unele alternative au consecințe negative pt. sănătatea publică:

De ex. suplimentarea cu oligoelemente, ex. Zn și Cu, ca alternativă la controlul colibacilozei suine (Fairbrother, 2005;. Hojberg 2005), a crescut semnificativ proporția de E. coli multirezistente in vivo în microbiomul enteral al porcilor (Bednorz, 2013) și o rezistență crescută la meticilină în cazul stafilococilor (Yazdankhah, 2014).



Vă mulțumesc pentru atenție!