



PROIZVODNJA ANTIBIOTIKOV

SLOVARČEK IZRAZOV

MIKROORGANIZMI Pripadniki gliv, alg, živali in bakterij; so enocelični, s prostim očesom nevidni organizmi. V ožjem pomenu so to predvsem predstavniki bakterij, filamentoznih gliv ter kvasovk.

PRODUKCIJSKI SEV je v laboratoriju pripravljena oziroma spremenjena vrsta mikroorganizma (sev), ki omogoča kar največjo proizvodnjo želenega proizvoda. Ti sevi so lahko, niso pa vedno genetsko spremenjeni.

MEDIJ ALI GOJIŠČE Mešanica v vodi raztopljenih organskih in mineralnih spojin, ki so hrana določenemu mikroorganizmu in omogočajo njegovo optimalno rast in razmnoževanje.

INOKULACIJA Postopek prenosa izbranega mikroorganizma iz manjšega v večji volumen gojišča ter njegovo namnoževanje v njem.

BIOSINTEZA Proizvodnja želenega proizvoda s proizvodnim organizmom oziroma produkcijskim sevom.

METABOLIZEM je skupina vseh kemijskih in fizikalnih reakcij v organizmu, ki celicam omogočajo presnovo in tvorjenje spojin, ki jim omogočajo rast, razvoj in preživetje v določenem okolju.

METABOLITI Metabolit ali presnovek je vsak vmesni ali končni proizvod metabolizma celice, ki omogoča njeno nadaljnjo rast in razmnoževanje.

PREKURZORJI so vsi metaboliti, ki delujejo pri tvorjenju določene spojine v celici.

PROIZVOD je spojina, ki jo želimo proizvesti z izbranim organizmom in izolirati iz fermentacijske brozge (na primer izbrani antibiotik).

BIOREAKTOR je umeten sistem (posode različnih

oblik in volumnov), v katerem vodimo biološki proces pridobivanja želenih končnih proizvodov. V njem zagotavljamo razmere, ki omogočajo kar največjo proizvodnjo zelene spojine. Ločimo laboratorijske (5–50 l), pilotne (50–5000 l) in industrijske bioreaktorje (do 500.000 l), ki se razlikujejo po volumnu in obliki, ki mora omogočati čim lažje ravnanje z bioreaktorjem.

FERMENTACIJA je izraz, ki pomeni proces proizvodnje zelene spojine z izbranim organizmom od začetka rasti organizma do faze, v kateri gojenje in proizvodnjo spojine dokončamo.

FERMENTACIJSKA BROZGA je mešanica gojišča, organizma ter želenih in odpadnih proizvodov celic, ki se pojavlja v bioreaktorju med procesom fermentacije.

AEROBNI PROCESI FERMENTACIJE so procesi tako imenovane fermentacije, ki potekajo ob prisotno-



IMGKID.COM

sti kisika, ki ga v proces običajno dovajamo z vpihovanjem.

PATOGENOST Sposobnost mikroorganizma, da pri človeku, živali ali rastlinah povzroča določene bolezenske znake.

KROMATOGRAFSKE TEHNIKE so tehnike ločevanja snovi, ki temeljijo na ločevanju na podlagi kemijskih in fizikalnih razlik spojin v mešanici (topnost, polarnost, naboj molekule ...)

S proizvodnjo protimikrobnih učinkovin (antibiotikov), ki so pretežno naravnega izvora, je poleg belih halj treba povezati še velike posode (bioreaktorje) z volumnom tudi več 100.000 litrov, ki lahko presežejo volumen olimpijskega bazena. A do industrijske proizvodnje v velikih bioreaktorjih, ki jim sledijo še postopki izolacije (čiščenja), polysintezne kemije in končnega oblikovanja v npr. tablete, pride šele po večletnem razvojnem delu, ki se začne z množico laboratorijskih testov in poskusov v epruveh.

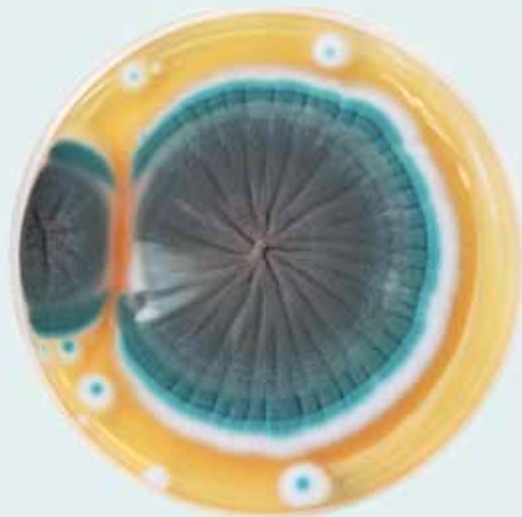
BESEDILO: **URŠA BRENČIČ** in **HRVOJE PETKOVIĆ**

V 21. stoletju zelo radi uporabljamo delitev na naravno in umetno, farmacevtski pripravki pa so pogosto označeni kot umetni. Trditev ne drži vedno. Antibiotiki so zdravilne učinkovine pretežno naravnega izvora, ki jih proizvajajo povsem nenevarne bakterije in drugi mikroorganizmi, zelo pogosto tudi rastline, včasih pa spojine z antibiotično aktivnostjo proizvajajo celo živali.

Danes antibiotike industrijsko najpogosteje proizvajamo z naravnimi biosintezni postopki z uporabo mikroorganizmov in jih naknadno spreminjamo z različnimi kemijskimi postopki, da izboljšamo farmakološke lastnosti učinkovin in zmanjšamo neželene stranske učinke. Mikroorganizmi, ki antibiotike proizvajajo, so večinoma iz skupine bakterij, najpogosteje iz skupine aktinomicet in filamentoznih gliv; sem spadata tudi rodova *Penicillium* in *Aspergillus*. Te organizme najdemo v naravnem okolju – največ kar v prsti.

LOV ZA MIKROORGANIZMI

Tla veljajo za enega najbolj raznovrstnih ekosistemov, kar jih pozna mikrobiologija. V enem gramu tal je po ugotovitvah mikrobiologov od 10.000 do 50.000 vrst mikroorganizmov in

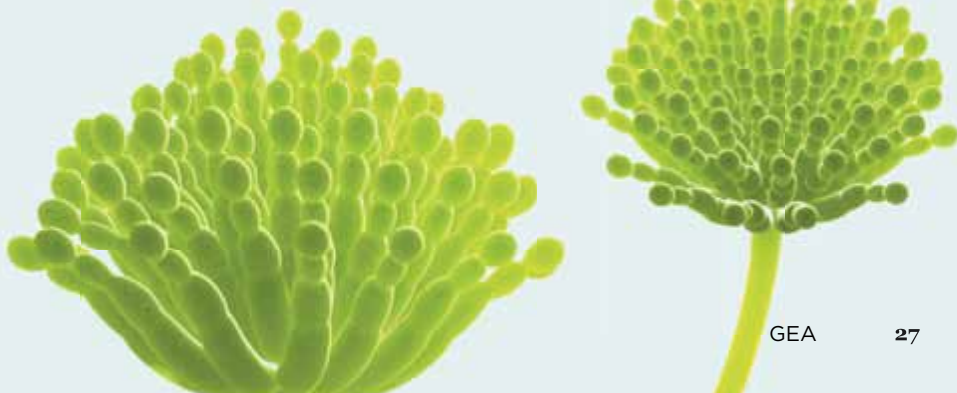


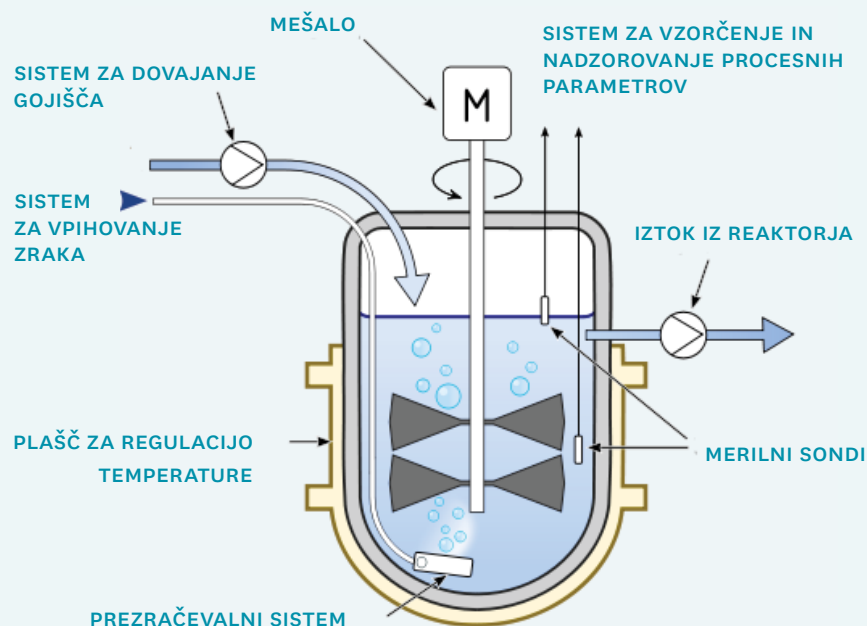
Gliva rodu *Penicillium*
na agarški plošči SHUTTERSTOCK

nekateri izmed njih so sposobni proizvajati protimikrobne učinkovine. Iskanje »pravega« antibiotika je tako povezano z intenzivnim testiranjem in poskusi, zanj je potrebno ogromno dela, potrpežljivosti in ne nazadnje tudi nekaj sreče.

Iskanje se začne s prenosom vzorca, npr. prsti iz narave v laboratorij. Tam se opravi »presejalno testiranje«, s katerim se išče mikroorganizem, ki bi lahko proizvajal protimikrobno

Gliva rodu *Aspergillus*
SHUTTERSTOCK





snov. Izbrani organizmi gredo potem v primerne rastne medije – gojišča, v katerih so izpostavljeni naravni selekciji in spreminjanju sestave gojišča, temperature gojenja ... Tako selekcionirani organizmi se pogosto zelo razlikujejo od svojih staršev iz naravnega okolja. Cilj teh postopkov je izolirati organizem, ki proizvaja veliko količino zelene spojine in ima vse lastnosti produkcijskih sevov:

- sposobnost rasti in proizvodnje zelene spojine v velikih volumnih in industrijskih posodah (bioreaktorjih),
- hitro rast in nezahtevnost pri gojenju,
- enostaven prenos procesa v gojišče za industrijsko proizvodnjo,
- neškodljivost za ljudi, živali, rastline in okolje
- dovzetnost za spreminjanje ter stabilnost morfoloških, fizioloških in genetskih lastnosti produkcijskega mikroorganizma

OD MIKROORGANIZMA DO ANTIBIOTIKA

Redko se zgodi, da raziskovalci odkrijejo (mikro)organizem, ki proizvaja antibiotik z zelenimi lastnostmi. Takšno protibakterijsko učinkovino takrat podrobno testirajo v sklopu predkliničnih raziskav, žal tudi na laboratorijskih živalih. Če protibakterijska aktivnost zadosti osnovnim predkliničnim zahtevam, testiranje napreduje v klinične stopnje raziskovanja, v katerih se učinkovina po zelo strogo določenih postopkih prvič testira na skrbno izbranih pacientih, ki so nenehno pod nadzorom kliničnih strokovnjakov. Vsi ti procesi testiranja morajo biti registrirani pri ustreznih institucijah, kot sta Evropska agencija za razvoj zdravil ali ameriška FDA, ki tudi dajo zeleno luč za uvajanje in uporabo novega zdravila (antibiotika) za zdravljenje infekcijskih bolezni v bolnišnicah. Tudi po registraciji te institucije pogosto preverjajo proizvodne postopke in kakovost končnega izdelka.

Razvoj nove protimikrobne učinkovine lahko traja več kot 10 let in zahteva izjemne finančne vložke, ki navadno presegajo vrednost 500



milijonov evrov. Do konca tega kompleksnega in dragega postopka je v zadnjih desetletjih prišlo le nekaj popolnoma novih antibiotikov.

OD GOJIŠČA DO LEKARNE

Zelo pomemben korak na začetku proizvodnje je izbira primerne gojišča. V industrijski proizvodnji morajo biti popolnoma prilagojena za rast izbranega organizma, sestavine pa čim cenejše ter dobavljive v velikih količinah. S pripravo in izboljšanjem gojišč v industriji se ukvarjajo strokovnjaki z mnogih področij, od biokemikov, mikrobiologov, biotehnologov pa vse do kemikov. Pri sestavi gojišča je pomembno izbrati primeren vir ogljika, dušika, žvepla ter drugih mineralov in mikroelementov. Kot vir ogljika se pogosto uporabljajo proizvodi živilske industrije, kot so škrob, rastlinska olja, sojina moka, glukoza, saharoza in drugi viri. Enako velja za vir dušika, pri katerem se lahko uporabljajo različni izvlečki z dušikom bogatih snovi, na primer kvasni izvleček, sojin protein, razgrajeni kazein in podobno. Minerali se pogosto dodajajo v obliki anorganskih soli. Zelo pomembna je tudi voda, ki jo uporabimo za gojišče, saj se ravno v njej raztapljajo vsa hranila in tako postanejo dostopna mikroorganizmom. Pogosto se uporablja pitna voda ali voda iz naravnih virov, ki je lahko dostopna in cenovno ugodna. Gojišča se po pripravi v bioreaktorju sterilizirajo na visoki temperaturi, da se prepreči rast neželenih bakterij iz okolja, ter ohladijo. Takrat so pripravljena na uporabo – gojenje izbranega organizma.

Proizvodnja antibiotikov poteka pri tako imenovanih biosinteznih postopkih.

Postopek biosinteze se začne z razmnoževanjem organizma v epruvetah ter v manjših posodah. S to kulturo se

organizem prenese v naslednjo stopnjo gojenja – inokulum. Razmnoženi organizem se najprej prenese v bioreaktorje volumna od 5 do 50 litrov, v njih pa se kultura mikroorganizma namnoži do volumna, ki je potreben za inokulacijo pilotnih bioreaktorjev; ti imajo volumen od 50 do 5000 litrov in se uporabljajo kot predpriprava za inokulacijo velikih industrijskih bioreaktorjev, ki dosegajo volumen tudi do 400.000 litrov. Laboratorijski in pilotni sistem bioreaktorjev nam tudi omogočata, da preverimo obnašanje organizma ter njegove proizvodne lastnosti v merilu, ki ne povzroča ekonomskih izgub pri postavljanju sistema proizvodnje. To je pomembno zato, ker pri prenosu v večje merilo pride do popolnoma drugačnega obnašanja organizma in tudi gojišča, v katerem ga gojimo.

Ko je proizvodnja končana, je treba želeno snov izločiti iz kulture mikroorganizma v gojišču ter jo

pretvoriti v obliko, ki bo na voljo končnim uporabnikom. Vsi nadaljnji koraki so odvisni od tega, ali se učinkovina zadržuje kot netopna snov (skupaj z mikroorganizmom) ali pa je raztopljena v gojišču. Če je snov raztopljena v gojišču, se antibiotik iz gojišča izloči z različnimi postopki, če pa je v netopni obliki, se navadno loči od celic z uporabo organskih topil. Končna čistost navadno presega 99 odstotkov. Sledi še končna priprava antibiotika ter njegovo oblikovanje za uporabnika – priprava tablet ali sirupov ter pakiranje in nato distribucija.

Antibiotik gre na poti do potrošnika skozi številna testiranja ustreznosti in čistosti – od kemičnih analiz, ki potekajo že med samo proizvodnjo, do končnih poskusov in kliničnih testiranj, da pacientu zagotovijo varno učinkovino v pravilnem odmerku z najmanjšim možnim tveganjem za pojav stranskih učinkov. 



URŠA BRENČIČ je diplomirana mikrobiologinja, trenutno študentka magistrskega programa druge stopnje, smeri mikrobiologija, na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani. Je aktivna članica Društva študentov mikrobiologije Slovenije, v katerem tudi sodeluje pri organizaciji izobraževalnih projektov, kot je bila Mikrobiološka poletna šola Antibiotiki 2014.

Prof. dr. HRVOJE PETKOVIČ je univerzitetni diplomirani inženir biotehnologije, z magisterijem na področju encimske biokemije in doktoratom iz mikrobne genetike. Po zaključku doktorskega študija se je pet let izpopolnjeval na podoktorskem študiju na Univerzi v Cambridgeu v Veliki Britaniji. Je specialist na področju razvoja industrijskih bioprocov in aktivnih učinkovin s po-

močjo biosinteznega inženirstva. Leta 2006 je soustanovil biotehnoško podjetje Acies Bio. Je profesor na Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani, na kateri predava pri številnih predmetih dodiplomskega in podiplomskega študija, vsebinsko vezanih na področje mikrobne biotehnologije.