

Toksični sojevi E.coli - trovanje zaraženom hranom

Panek, Marina

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:781946>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

**TOKSIČNI SOJEVI *E. COLI*- TROVANJE ZARAŽENOM
HRANOM**

**TOXIC STRAINS OF *E. COLI*- POISONING FROM
INFECTED FOOD**

SEMINARSKI RAD

Marina Panek

Preddiplomski studij molekularne biologije

(Undergraduated Study of Molecular biology)

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Ivančević Baće

Zagreb, 2012

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. <i>ESCHERICHIA COLI</i> -TOKSIČNI SOJEVI	3
2.1. Enterotoksični sojevi <i>E.coli</i> (ETEC).....	4
2.2. Enteropatogeni sojevi <i>E.coli</i> (EPEC).....	4
2.3. Enterohemoragični sojevi <i>E.coli</i> 0157:H7 (EHEC).....	4
2.3.1. Sekvencioniranje genoma bakterije <i>E.coli</i> 0157:H7 (EHEC)	5
3. TOKSINI.....	6
3.1. Egzotoksini.....	6
3.2. Endotoksini.....	7
4. EPIDEMIJA U NJEMAČKOJ 2011.GODINE	8
4.2. Što je bilo neobično u Njemačkoj epidemiji	8
4.2. <i>Esherichia coli</i> 0104:H4	9
5. OTPORNOST BAKTERIJA NA ANTIBIOTIKE.....	10
5.1. Zbog čega se javlja bakterijska otpornost na antibiotike?.....	10
5.2. Kako nastaju superbakterije?	11
6. LITERATURA	12
7. SAŽETAK	13
8. SUMMARY.....	13

1. UVOD

U širem smislu pojam 'trovanje hranom' obuhvaća sva oboljenja koja nastaju uzimanjem nezdrave, pokvarene ili otrovne hrane. U većini slučajeva trovanje hranom nastaje uslijed zagađenja hrane različitim bakterijama i njihovim toksinima (1). Približno 66 % svih pojava bolesti koje se prenose putem hrane su izazvane bakterijskim patogenima, a za približno 60 % uzroci nisu utvrđeni. Najčešće izaziva trovanja hranom su: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Vibrio*... Bolesti koje se prenose putem hrane izazvane kombinacijom intoksikacije hranom i infekcije hranom se nazivaju toksikoinfekcijama hrane. Kod ove bolesti, patogene bakterije se razvijaju u hrani. Veliki broj njih se zatim unosi u organizam domaćina zajedno sa hranom i kada dospiju u crijevo, nastavlja se patogeno razmnožavanje, uz proizvodnju toksina, što dovodi do pojave simptoma bolesti (2).

U ljudskom probavnom traktu borave milijarde različitih bakterija. Procijenjeno je da postoji preko 500 različitih vrsta unutar jedne osobe. Te bakterije uzrokuju malu štetu i nekoliko vrsta zapravo nas štiti, bore se protiv bakterija koje mogu uzrokovati bolesti. Ove bakterije nastanjuju ljudsko tijelo od rođenja (crijeva beba su zapravo sterilna kada se rode, iako se brzo koloniziraju bakterijama putem hrane, mlijeka, vode) (3).

Jedna od bakterija koja živi u crijevima je *Escherichia coli* (*E. coli*). Većina sojeva *E. coli* su bezopasni i ne izazivaju reakciju u tijelu uopće. Međutim *E. coli* može biti problem, ukoliko se iz probavnog trakta preseli u druge dijelove tijela (ulaskom u mokraćni mjehur izaziva infekcije mokraćnog sustava). Drugi sojevi *E. coli* mogu uzrokovati štetu, ako ih se unese u ljudsko tijelo, jer u tijelu ti sojevi mogu proizvoditi razne toksine. To može biti uzrokovano lošom higijenom (kao što je nedostatak pranja ruku) ili konzumiranjem zaražene hrane. Ti toksini mogu uništiti sluznicu crijeva, uzrokovati anemije, grčeve u želucu, krvave stolice i ozbiljne komplikacije nazvane hemolitički uremički sindrom (HUS). Simptomi infekcije sa *E. coli* su proljev, nadutost, slabost i povišena temperatura. *E. coli* proizvode toksine u probavnom traktu, a oni zatim ulaze u krvotok i oštećuju bubrege. Najozbiljniji slučajevi mogu biti fatalni. Infekcija se može identificirati uzimanjem uzorka stolice. Liječenje se vrši davanjem infuzije, uporabom kortikosteroida, a za najteže slučajeve transfuzijom krvi ili dijalizom (3).

2. ESCHERICHIA COLI-TOKSIČNI SOJEVI

Odmah po ro enju, vanjska površina i otvori na našem tijelu koloniziraju se velikim brojem razli itih vrsta mikroorganizama, koji potje u od drugih ljudi i okoline gdje smo ro eni. Ti mikroorganizmi su sastavni dio naše stalne prirodno prisutne mikrobne populacije. Ve ina tih mikroorganizama su bakterije, ali ponekada su prisutni i kvasci. Me utim, ta mikrobna populacija živi u simbiotskom odnosu s nama i osigurava nam puno zdravlje. Tako prisustvo, na primjer *E. coli* u debelom crijevu pomaže u prevenciji naseljavanja patogenih bakterija *Salmonella spp.* Osim toga, odre ene bakterije debelog crijeva sintetiziraju vitamin K i zna ajno doprinose našim potrebama za tim vitaminom. Naše tijelo stalno je izloženo infekciji mikroorganizmima koji nisu dio naše stalne mikrobne populacije. Ve ina tih mikroorganizama za nas je bezopasna i prolazna. Druga skupina su patogeni mikroorganizmi koji za razliku od prve skupine, imaju sposobnost napasti/naseliti naše tijelo, ili stvarati toksine i/ili oboje zajedno (4).

Esherichia coli je gram negativna štapi asta, fakultativno anaerobna bakterija. Otkriveno je etiri serološka tipa *E. coli* i to: enterohemoragi ni 0157:H (EHEC), enterotoksi ni (ETEC), enteroinvazivni (EIEC) i enteropatogeni (EPEC) (2).

Glavni izvor svih sojeva je ovjek. Ovaj mikroorganizam se nalazi u fekalijama stoke i može zaraziti meso tokom obrade. Zato je važno utvrditi metode koje se primjenjuju tokom obrade kako bi se kontroliralo razmnožavanje patogena. Teletina se naj eš e povezuje sa pojavljivanjem bolesti u SAD-u. Suhomesnati proizvodi povezuju se sa pojavom bolesti, pokazuju i da manji broj patogena može preživjeti u kiselom fermentiranom mesu i izazvati bolesti. Druga hrana koja se povezuje sa patogenima je nepasterizirani sok od jabuke i jabu ni ocat. Najve e izbijanje epidemije izazvane sa *E. coli*, od kojih se je razboljelo na tisu e ljudi, zabilježeno je u Japanu 1996. godine i bilo je povezano s klicama rotkvice. Voda za pi e bila je prenosnik kod nekoliko epidemija izazvanih sa *E. coli*. Oko 3,2 % teladi koja sisa i 1,6 % stoke koja pase, pozitivno je na prisustvo *E. coli* (0157:H7). Otkriveno je da su jeleni glavni izvor ovog patogena i da do prijenosa ovog mikroorganizma može do i izme u jelena i stoke. U fekalijama je otkriveno da se ovaj patogen pojavljuje sezonski i da je prolazan. Prisustvo *E. coli* u fekalijama je na vrhuncu tijekom ljeti, a tokom prolje a i jeseni je znatno manji (2).

2.1. Enterotoksični sojevi *E. coli* (ETEC)

Proizvode različite toksine, od kojih je najznačajniji za ovjeka enterotoksin. Ovaj toksin po sastavu je lipopolisaharid i sastoji se od dvije komponente: termolabilne i termostabilne. Termostabilna komponenta otporna je na visoke temperature i njegova struktura se narušava tek na 100°C nakon 30 minuta djelovanja. Termolabilni dio ovog toksina osjetljiv je na povišenu temperaturu, što je dobro, jer je odgovoran za kompletno djelovanje toksina i uništava ga temperatura od 65°C od 30 minuta. Ovaj enterotoksin stvara je po svome djelovanju enterotoksinu *Vibrio cholerae*, uzročniku kolere. Pod njegovim djelovanjem dolazi do povlačenja vode iz tkiva organa u lumen crijeva, što dovodi do dehidracije. Kod bolesnika se javlja proljev, mučnina, povraćanje i slabost (2).

2.2. Enteropatogeni sojevi *E. coli* (EPEC)

Ovi sojevi ne stvaraju otrovne supstance. Kod ovjeka izazivaju akutni gastroenteritis. Znaci oboljevanja slični su onima nastalim uslijed dizenterije. Kod oboljelih manifestiraju se abdominalni grčevi. Česti proljevi, a u stolici može biti prisutna krv, gnoj, sluz i mnogobrojni leukociti (2).

2.3. Enterohemoragični sojevi *E. coli* 0157:H7 (EHEC)

Prvi soj ove bakterije otkriven je 1982. godine u SAD-u. Od tada se EHEC povezuje sa pojavom bolesti nakon nedovoljno pečene mesa, salame, nepasteriziranog mlijeka. Ovaj patogen preživljava i niske pH vrijednosti od 4,0-4,5 pa je činjenica da patogen može preživjeti i u kiseloj hrani vrlo važna za prevenciju infekcije.

Sve enterohemoragične vrste proizvode šiga toksin 1 i/ili šiga toksin 2, također poznate i kao verotoksin 1 i verotoksin 2. Sposobnost proizvodnje šiga toksina potječe od bakteriofaga, vjerovatno direktno ili indirektno iz bakterije *Shigelle*. Infektivna doza za pojavu bolesti je niska (2000 stanica ili manje) zbog tolerancije na kiselost.

Početni simptomi se javljaju 12 do 60 sati nakon konzumiranja zaražene hrane. Bakterija se uhvati na stijenkama crijeva, proizvode i toksin koji napada sluznicu crijeva. Simptomi počinju blagom dijarejom bez krvi, koja je praćena bolovima u trbuhu i rastom temperature. Tokom narednih 24-48 sati dijareja postaje izražena krvava i dolazi do djelomične dehidracije organizma. Tjedan dana nakon pojave gastrointestinalnih smetnji,

javlja se hemoliti ko - uremi ni sindrom (HUS). Dolazi do pojave edema i akutnog poremećaja u radu bubrega. Najčešće se javlja kod male djece, mlađe od 10 godina. U Sj. Americi HUS je najčešći uzrok akutnog zatajenja bubrega u djece (2).

2.3.1. Sekvencioniranje genoma bakterije *E. coli* 0157:H7 (EHEC)

Sekvencioniranje genoma bakterije *E. coli* 0157:H7 provedeno je kako bi se identificirali geni odgovorni za patogeni u inak ovoga soja. U usporedbi sa nepatogenim laboratorijskim sojem *E. coli* K-12 MG1655 pokazalo se da su ova dva soja za 98,5 % nukleotida identični. Ukupno 4.1 milijun parova baza u genomu gotovo se podudaraju. Međutim soj 0157 ima 1387, a soj K-12 528 različitih gena.

Znanstvenici koji su izvršili sekvencioniranje genoma ovih dvaju sojeva, zaključuju da ti sojevi potječu od zajedničkog pretka prije 4,5 milijuna godina. Genetici pretpostavljaju da su, pored mogućih mutacija i rekombinacija gena, različiti geni usvojeni tzv. 'horizontalnim' prijenosom iz genoma drugih bakterija ili faga (bakterijskih virusa). Za 40 % (to nije 561 od 1387) gena soja 0157 utvrđena je uloga, dok je za ostale uloga još nepoznata. Taj soj bakterija izgleda da je horizontalnim prijenosom usvojio određene toksične gene bakterije *Shigella*, kao i plazmide sa faktorima virulencije. Među tim faktorima virulencije su periplazmatske katalaze i šiga toksini. Šiga toksini kataliziraju inaktivaciju 60S podjedinice ribosoma eukariotskih stanica, blokiraju mRNA translaciju i uzrokuju smrt stanice (5).



Slika 1. Prikazuje enterohemoragični soj *E. coli* 0157:H7

(Preuzeto iz:

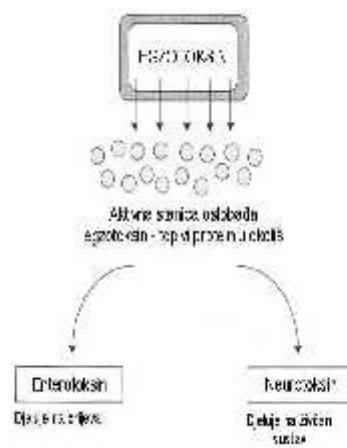
<http://www.charlesayoub.com/news/public/uploads/images/92953377123922110.jpg>)

3. TOKSINI

Toksini su kemijske supstance koje kodiraju određene vrste patogenih mikroorganizama. Za humani i životinjski organizam oni su štetni, jer imaju negativan učinak na različita tkiva ili na fiziološke funkcije u organizmu. Bakterijski toksini dijele se u dvije skupine: a) *egzotoksini* i b) *endotoksini* (4).

3.1. Egzotoksini

Egzotoksini su topljivi proteini koje neke patogene bakterije izlučuju u vanjsku sredinu, a putem krvotoka mogu dospjeti u bilo koji dio tijela. Glavni su faktori virulencije u patogenezi bolesti kao npr. tetanus, difterija, plinska gangrena, dizenterija i dr. Egzogene toksine luče vrste roda *Clostridium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Shigella*, *Pseudomonas*. Egzotoksini su jaki antigeni i najjači poznati otrovi, npr. jedan od najjačih toksina je *Clostridium botulinum* (oko 200 grama ovog otrova može ubiti cijelo stanovništvo). Egzotoksini imaju specifičnu afinitet prema pojedinim tkivima: neurotropni, kardiotropni, nefrotropni i zbog toga imaju specifične simptome bolesti. Npr. egzotoksin *C. tetani* (tetanus) luči se u trenutku klijanja endospore u vegetativnu stanicu i uzrokuje izuzetno snažne grčeve mišića. Enterotoksini su egzotoksini koji napadaju crijevni sustav i uzrokuju dijareje (*E. coli*, *Salmonella*, *Vibrio* c.) (6).



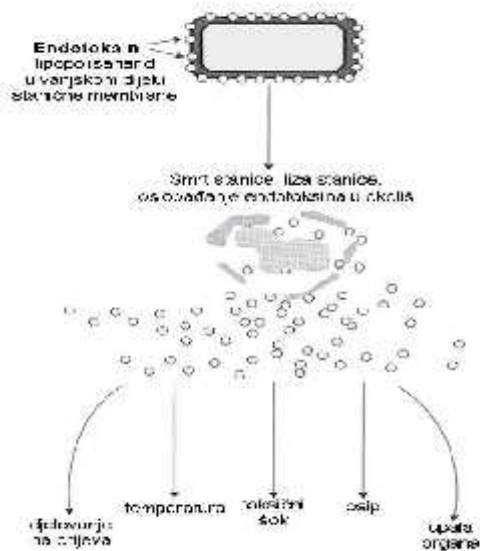
Slika 2. Bakterijski egzotoksin

(Preuzeto iz:

http://www.agr.unizg.hr/cro/nastava/moduli/doc/26440_kontaminanti_hrane4.pdf)

3.2. Endotoksini

Endotoksini su sastavni dio bakterijske stanice, tj. lipidi koji su sastavni dio lipopolisaharidnog kompleksa u staničnoj stijenci bakterija. Njih bakterije ne mogu izlučiti u vanjsku sredinu, oni se oslobađaju iz bakterijske stanice samo ako se ona razori. To su mnogo slabiji antigeni od egzotoksina i ne pokazuju izrazit afinitet prema pojedinim vrstama tkiva. Svi endotoksini izazivaju iste ili slične simptome tj. stanica doma in kao odgovor na endotoksine lu i pirogene supstance koje uzrokuju groznicu ili bol na mjestu infekcije. Endotoksini prolongirano djeluju na ljudski organizam, što za posljedicu može imati trajno oštećenje tkiva, koje u određenim slučajevima može dovesti do smrti (6).



Slika 3. *Bakterijski endotoksin*

(Preuzeto iz:

http://www.agr.unizg.hr/cro/nastava/moduli/doc/26440_kontaminanti_hrane4.pdf)

4. EPIDEMIJA U NJEMAČKOJ 2011.GODINE

U svibnju 2011. godine u Sjevernoj Njemačkoj izbio je velika epidemija trovanja hranom. Simptomi bolesti bili su krvava stolica popraćena hemolitičkom uremičnim sindromom (HUS) (7). U početku se je smatralo da je krivac za izbijanje epidemije enterohemoragični soj (EHEC) *E. coli*, ali kasnije se je uspostavilo da je epidemija izazvana sa novim sojem *E. coli* O104 nazvanim verocitotoksik (VTEC) koji je uvelike bio sličan soju (EHEC) (8). Epidemiološka istraživanja prvo su predložila da je izvor zaraze u svježem povrću i to sa farme koja proizvodi različite vrste sjemenki za klijanje. Tek su i laboratorijskim istraživanjima potvrdili da se u sjemenkama nalazi ovaj soj bakterija, farma je odmah zatvorena. Tek kasnije početkom kolovoza 2011. godine, objavili su da su sjemenke dovezene iz Egipta najvjerojatnije izvor zaraze i epidemije.

U Njemačkoj je bilo 3800 slučajeva oboljelih od kojih je 45 bilo smrtnih, također se je zaraza proširila i na Švicarsku, Poljsku, Nizozemsku, Švedsku, Dansku, UK, Kanadu i Ameriku (7).

4.2. Što je bilo neobično u Njemačkoj epidemiji ?

Najneobičnija je bila poveznica između patogenog soja *E. coli* i povrća, jer je za *E. coli* tipično nije da se širi preko mesa. Također je bila fascinantna brzina kojom se je epidemija širila. Bili su zabilježeni slučajevi, gdje se je inficirana salata konzumirala u 2 sata poslijepodne u Njemačkoj i već u 6 sati poslijepodne u Londonu. Neobično je bilo također i to što su svi inficirani ljudi bili relativno zdravi i srednjih godina, jer bakterije u većini slučajeva poginjavaju djecu i ljude slabog imunološkog sustava. Mnogo činjenica o Njemačkoj epidemiji je ostalo nepoznato, pa i samo pitanje da li je uistinu izvor zaražene hrane bilo proklijalo zrno (8).

5. OTPORNOST BAKTERIJA NA ANTIBIOTIKE

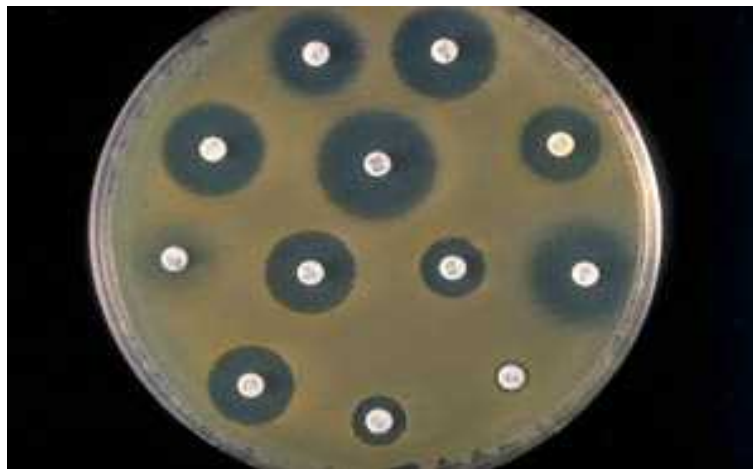
Prije pojave prvih antibiotika, izloženost ovjeka bakterijama, mogla je dovesti esto i do smrti. Ljudi su se na mnoge načine borili protiv bakterija: puštanjem krvi, vraćanjem, amajlijama, magijom, izoliranjem oboljelih itd. Sve dok 1929. godine *Aleksander Fleming* nije otkrio antibiotik. Antibiotici su osvojili svijet i u kombinaciji sa boljim higijenskim uvjetima spasili mnoge ljudske živote, ali sve jačom upotrebom antibiotika, nastao je evolucijski pritisak na bakterije. Prva zabilježena bakterija sa otpornošću na antibiotik (penicilin) bila je 1940. godine *E. coli*, a od tada do danas, otpornost na razne antibiotike razvile su i mnoge druge (10).

5.1. Zbog čega se javlja bakterijska otpornost na antibiotike?

Bakterije su izložene brzim promjenama okoliša u kojem žive, zbog svog kratkog životnog ciklusa i brze izmjene generacija. Ako se ne bi mogle brzo prilagoditi, ne bi mogle opstati u uvjetima žestoke kompeticije s drugim organizmima. Kada bi sve jedinice populacije bile genetski identične i kada bi potomci nasljeđivali iste osobine, evolucija ne bi bila moguća. Stoga je uvelike bitna genetska varijabilnost tj. mutacije koje se događaju. No problem mutacija je to što su rijetke, a nastale promjene gotovo redovito zahvaćaju samo jedan gen. Znanstvenici su godinama mislili da je DNA molekula stabilna i da geni nemaju mogućnost kretanja po genomu, sve do 1950. godine kada je *Barbara McClintock* otkrila postojanje tzv. pokretnih genetičkih elemenata, koji su kasnije pronađeni i u bakteriji *E. coli*. Transfer gena i pokretanje genetičkih materijala rezultiraju simultanom promjenom, zamjenom, izrezivanjem ili dodavanjem većeg broja gena, što za bakterije znači brzu i opsežniju promjenu nasljedne upute, tj. veće šanse za opstanak (10).

5.2. Kako nastaju superbakterije?

R-plazmidi su jedna od najvažnijih i najproučavanijih grupa bakterijskih plazmida. Smatra se da je stvaranje R-plazmida vjerojatno posljedica nakupljanja pokretnih genetičkih elemenata koji kodiraju otpornost na različite antibiotike na istom plazmidu. Slovo R u imenu potječe od engleske riječi i resistance (otpornost, rezistentnost) koja nam sama po sebi govori karakteristiku, zašto su tako bitni. Otpornost se najčešće javlja na antibiotike *sulfanilamid*, *streptomycin*, *kloramfenikol* i *tetraciklin*. Najvažnije je svojstvo da se otpornost na antibiotike može prenositi sa rezistentnih bakterija na nerezistentne, ali i na one koje već nose rezistenciju na iste ili različite antibiotike, stvarajući još veću otpornost (10).



Slika 5. Prikaz djelovanja antibiotika na vrstu *Enterobacter sakazakii*

(Preuzeto iz:

<http://prirodnilek.com/superbakterije-i-stjecanje-otpornosti-na-antibiotike>)

Za razvoj ovakvih rezistentnih sojeva, tzv. *superbakterija*, osobito su plodna tla velike bolnice, zbog stalne i intenzivne izloženosti bakterija evolucijskom pritisku brojnih antibiotika. Bolničke infekcije zabilježili su još stari Grci, a u novije vrijeme pojavljuju se u 5-6% zaprimljenih pacijenata, s tim da je postotak viši kod zemalja u razvoju, gdje su uvjeti i higijena lošiji, a antibiotici se često neumjereno upotrebljavaju. Najčešći uzročnici ovih infekcija su bakterije *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas sp.* Na sreću, intenzivan procvat molekularne biologije te znanosti kao što su genomika i bioinformatika daju nam nadu da će borba protiv bakterijskih bolesti i njihove rezistencije u skorijoj budućnosti doživjeti revoluciju. (10)

6.LITERATURA

1. http://minber.ba/index.php?option=com_content&view=article&id=3768:trovanje-hranom&catid=54:zdravlje&Itemid=78
2. <http://www.tehnologijahrane.com/mikrobiologijahrane/bakterije-izazivaci-trovanja-hranom>
3. <http://digitaljournal.com/blog/14575>
4. http://www.agr.unizg.hr/cro/nastava/moduli/doc/26440_kontaminanti_hrane4.pdf
5. <http://2012-transformacijasvijesti.com/alternativna-medicina/globalna-gmo-zavjera-i-trovanje-s-e-coli>
6. <http://www.scribd.com/doc/30071259/21/TOKSINI-PROKARIOTA>
7. http://en.wikipedia.org/wiki/2011_Germany_E._coli_O104:H4_outbreak
8. <http://digitaljournal.com/blog/14575>
9. <http://www.labnews.co.uk/features/e-coli-0104-deadly/>
10. <http://prirodnilek.com/superbakterije-i-stjecanje-otpornosti-na-antibiotike>

7.SAŽETAK

Pojam 'trovanje hranom' obuhvaća sva oboljenja koja nastaju uzimanjem nezdrave, pokvarene ili otrovne hrane. U većini slučajeva nastaje uslijed zagađenja hrane različitim bakterijama. Jedna od bakterija koja živi u ljudskim crijevima je *Escherichia coli* (*E. coli*) i većina sojeva su bezopasni i ne izazivaju reakcije u tijelu uopće. Međutim neki sojevi *E. coli* mogu uzrokovati štetu, ako ih se unese u ljudsko tijelo, jer proizvode toksine i ti sojevi su patogeni.

U ovom radu opisano je trovanje hranom uzrokovano sa *E. coli*, te svi toksični sojevima ove vrste bakterije. Osvrnut će se na zadnji slučaj trovanja hranom koji se je dogodio u Njemačkoj 2011.godine i na soj 0104 *E. coli*. Na kraju će još nešto reći o pojavi 'superbakterija' i uzroku njihove otpornosti na antibiotike.

8.SUMMARY

The term 'food poisoning' includes all diseases caused by taking unhealthy, rotten or poisonous food. In most cases, caused by food contamination with different bacteria. One of the bacteria that live in human intestines is *Escherichia coli* (*E. coli*) and most strains are harmless and do not cause reactions in the body in general. However, some strains of *E. coli* can cause damage if they are entered into the human body, because they produce toxins and these strains are pathogenic.

In this work I will write about the food poisoning caused by *E. coli*, and all toxic strains of this bacterium. I will comment on the latest case of food poisoning that has occurred in Germany 2011 and about *E. coli* strain 0104. In the end I will still say something about the phenomenon 'superbacteria' and the cause of their resistance to antibiotics.