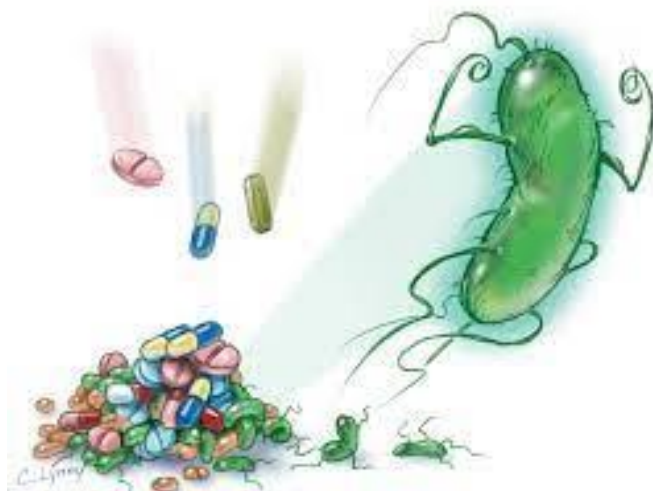




ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Θέμα πτυχιακής εργασίας

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ



Σωτήρχου Χριστίνα
AM16160

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Χούχουλα Δήμητρα

Αθήνα 2021



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Θέμα πτυχιακής εργασίας

**ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ**

Εξεταστική Επιτροπή

01	ΧΟΥΧΟΥΛΑ ΔΗΜΗΤΡΑ	
02	ΚΟΝΤΕΛΕΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	
03	ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ ΑΝΘΙΜΙΑ	

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Χριστίνα Σωτήρχου του Σταύρου Σωτήρχου με αριθμό μητρώου 16160 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Ο/Η Δηλών/ούσα



Περίληψη

Θέμα της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί στα αντιμικροβιακά φάρμακα. Πρόκειται για ένα πρόβλημα που απασχολεί την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα εδώ και δεκαετίες, και με το πέρασμα του χρόνου το πρόβλημα διογκώνεται. Τα αντιβιοτικά αποτέλεσαν μία επανάσταση στην ιατρική αλλά και στην κτηνοτροφία κατά τον 20^ο αιώνα. Έδωσαν τη δυνατότητα στον άνθρωπο να αντιμετωπίσει σοβαρές μικροβιακές λοιμώξεις που απειλούσαν τη ζωή του και, επίσης, έδωσε τη δυνατότητα στην κτηνοτροφία να αυξήσει το παραγωγικό δυναμικό της. Ωστόσο, η αλόγιστη και υπέρμετρη χρήση των αντιβιοτικών οδήγησε τους μικροοργανισμούς, και ιδίως τα βακτήρια να αναπτύξουν μηχανισμούς ανθεκτικότητας και αντοχής σε πολλά από αυτά τα φάρμακα. Δημιουργήθηκαν στελέχη μικροοργανισμών ανθεκτικών και δύσκολων να αντιμετωπιστούν με τη συνήθη φαρμακευτική αγωγή. Συχνά απαιτείται μεγαλύτερη δόση φαρμάκων ή μεγαλύτερη διάρκεια αγωγής ή ακόμη και η συμπληρωματική χρήση εναλλακτικών ή δευτερευόντων φαρμάκων. Οι κύριοι μηχανισμοί αντίστασης που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί στα αντιβιοτικά είναι ο περιορισμός της πρόσληψης του φαρμάκου, η τροποποίηση του στόχου δράσης του φαρμάκου είτε με κάποια μετάλλαξη της δομής ή με κάποια ουσιαστική μεταβολή, η απενεργοποίηση των αντιβιοτικών συνήθως μέσω ενζύμων και η ενεργή εκροή των αντιβιοτικών με την βοήθεια κατάλληλων αντλιών εκροής. Απαιτείται για την ανάσχεση της μικροβιακής ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά πρώτα από όλα ενημέρωση, υπευθυνότητα και συνεργασία σε κρατικό αλλά και ατομικό επίπεδο.

ABSTRACT

The topic of this thesis is the mechanisms of resistance of microorganisms to antimicrobial drugs. This is a problem that has plagued the global scientific community for decades, and over time the problem is growing. Antibiotics were a revolution in medicine but also in animal husbandry during the 20th century. They enabled man to deal with serious, life-threatening microbial infections and also enabled livestock to increase its productive capacity. However, the reckless and excessive use of antibiotics has led microorganisms, especially bacteria, to develop mechanisms of resistance and resistance to many of these drugs. Strains of microorganisms resistant and difficult to treat with standard medication were created. Often a higher dose of medication or a longer duration of treatment or even the complementary use of alternative or secondary medications is required. The main mechanisms of resistance that microorganisms develop in antibiotics are the restriction of drug intake, the modification of the target of action of the drug either by a mutation in the structure or by a substantial change, the inactivation of antibiotics usually by enzymes and the active outflow of antibiotics with the help of suitable drain pumps. In order to stop the microbial resistance to antibiotics, information, responsibility and cooperation at state and individual level are required.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ABSTRACT	5
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ	8
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ	8
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : ANTIBIOTIKA	11
1.1 Ορισμός αντιβιοτικών	11
1.2 Ιστορική εξέλιξη αντιβιοτικών	11
1.3 Ταξινόμηση αντιβιοτικών	16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	18
ΧΡΗΣΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ANTIBIOTIKΩΝ	18
2.1 Εισαγωγή	18
2.2 Χρήση αντιβιοτικών και στην κτηνοτροφία	19
2.3 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών	19
2.3.1 Αναστολή της σύνθεσης ή καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων	21
2.3.2 Αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης	22
2.3.3 Αναστολή της διαδικασίας σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων	26
2.3.4 Αλλοίωση της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης	27
2.3.5 Αναστολή ορισμένων μεταβολικών διαδικασιών	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ANTIBIOTIKA	30
3.1 Εισαγωγικά στοιχεία	30

3.2 Ιστορική εξέλιξη της ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά	31
3.3 Γενετική βάση της αντιμικροβιακής αντίστασης	34
3.3.1 Μετάλλαξη του γενετικού υλικού των παθογόνων μικροοργανισμών	34
3.3.2 Οριζόντια μεταφορά γενετικού υλικού	37
3.4 Μηχανισμοί ανθεκτικότητα	39
3.4.1 Περιορισμός της πρόσληψης φαρμάκου	41
3.4.2 Τροποποίηση – όπως με μετάλλαξη ή αντικατάσταση - του στόχου δράσης των	42
3.4.3 Απενεργοποίηση ενός φαρμάκου	44
3.4.4 Ενεργή εκροή ενός φαρμάκου.	44
3.5 Περιβάλλον και ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών στα αντιμικροβιακά φάρμακα	49
3.6 Παγκόσμια κινητοποίηση για τον περιορισμό της μικροβιακής ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά	52
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1: Δομές της αρσφεναμίνης, γνωστής και ως Salvarsan, το οποίο είναι ένα μείγμα ενώσεων με αρσενικό	13
Εικόνα 2: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού τοιχώματος των Gram (-) αρνητικών και των Gram (+) θετικών βακτηρίων	21
Εικόνα 3: Σύνθεση του βακτηριακού ριβοσώματος	24
Εικόνα 4: Επικράτηση ανθεκτικού μεταλλαγμένου βακτηριακού κυττάρου.....	36
Εικόνα 5: Συνοπτικά ορισμένοι μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας των βακτηρίων έναντι των αντιβιοτικών.....	39
Εικόνα 6: Τύποι αντλιών εκροής βακτηριακών κυττάρων.....	49
Εικόνα 7: Ενιαία Υγεία/ OneHealth.....	52

Κατάλογος πινάκων

Πίνακας 1: Αντιβιοτικά ανάλογα με τον μικροοργανισμό από τον οποίο προέρχονται, τον στόχο και μηχανισμός δράσης	13
--	----

Εισαγωγή

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει ως θέμα τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί στα αντιμικροβιακά φάρμακα. Αποτελείται από τρία κεφάλαια. Στην εργασία αυτή, ο όρος αντιμικροβιακά και αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ως συνώνυμα.

Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται μία γρήγορη αναφορά στον ορισμό των αντιβιοτικών, στην ιστορική εξέλιξη τους και γίνεται η ταξινόμηση των αντιμικροβιακών φαρμάκων ανάλογα με το είδος των οργανισμών εναντίον των οποίων δρουν (αντιβακτηριακά, αντιμυκητοβακτηριακά, αντιικά, αντιμυκητιακά και αντιπαρασιτικά), ανάλογα με το φάσμα δράσης τους (στενού και ευρέος φάσματος), και ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους έναντι των βακτηρίων (βακτηριοκτόνα και βακτηριοστατικά).

Στο δεύτερο κεφάλαιο, παρουσιάζονται οι μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών. Η γνώση της δράσης ενός αντιβιοτικού επιτρέπει την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών της ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν. Οι κυριότεροι μηχανισμοί δράσης σχετίζονται με το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων και αποσκοπούν στην αναστολή της σύνθεσής του και της καταστροφής του, στην αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης και της διαδικασίας σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων, στην λειτουργική αλλοίωση της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών και στην αναστολή ορισμένων μεταβολικών διαδικασιών. Με τους τρόπους αυτούς, τα μικροβιακά κύτταρα καθίστανται ανενεργά, ενώ παράλληλα τα αντιμικροβιακά φάρμακα στοχεύουν αποκλειστικά σε αυτά και όχι στα ανθρώπινα ή ζωικά κύτταρα του οργανισμού που καλούνται να προστατεύσουν.

Στο τρίτο κεφάλαιο, εξηγείται ότι ο κύριος λόγος της εμφάνισης της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών στα αντιμικροβιακά φάρμακα είναι η υπέρμετρη και αλόγιστη χρήση τους, τόσο στην ανθρώπινη ιατρική όσο και στην κτηνοτροφία. Ο κυριότερος παράγοντας που οδηγεί στην εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά είναι οι μεταλλάξεις. Μέσω μίας διαδικασίας φυσικής επιλογής, τα στελέχη που είναι καλύτερα προσαρμοσμένα στις περιβαλλοντικές συνθήκες είναι και αυτά που επιβιώνουν και επικρατούν τελικά. Είναι σημαντικό να διαχωριστεί ο όρος φυσική ή εγγενής αντίσταση ενός

μικροοργανισμού σε ένα φάρμακο από την επίκτητη, η οποία οδηγεί στη διαμόρφωση στελεχών με νέες, άγνωστες ιδιότητες.

Οι κυριότεροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί είναι τέσσερις:

- Ο περιορισμός της πρόσληψης του αντιμικροβιακού φαρμάκου
- Η τροποποίηση του στόχου δράσης του φαρμάκου
- Η απενεργοποίηση ενός φαρμάκου συνήθως με τη βοήθεια ενζύμων
- Η ενεργή εκροή ενός φαρμάκου μέσω αντλιών εκροής

Κεφάλαιο 1 : Αντιβιοτικά

1.1 Ορισμός αντιβιοτικών

Ο όρος αντιβιοτικά ορίστηκε για πρώτη φορά από τον Selman A. Waksman το 1947, σε ένα έγγραφο που δημοσίευσε με τίτλο: «What is an Antibiotic or Antibiotic Substance? ». Σύμφωνα, λοιπόν με τον Waksman, «Το αντιβιοτικό είναι μια χημική ουσία, που παράγεται από μικροοργανισμούς, η οποία έχει την ικανότητα να αναστέλλει την ανάπτυξη και ακόμη και να καταστρέφει τα βακτήρια και άλλους μικροοργανισμούς. Η δράση ενός αντιβιοτικού ενάντια στους μικροοργανισμούς είναι εκλεκτικής φύσης, ορισμένοι οργανισμοί επηρεάζονται και άλλοι καθόλου ή μόνο σε περιορισμένο βαθμό. Έτσι κάθε αντιβιοτικό χαρακτηρίζεται από ένα συγκεκριμένο αντιμικροβιακό φάσμα. Η εκλεκτική δράση ενός αντιβιοτικού εκδηλώνεται επίσης έναντι μικροβιακών έναντι κυττάρων ξενιστή. Τα αντιβιοτικά διαφέρουν πολύ ως προς τις φυσικές και χημικές τους ιδιότητες και ως προς την τοξικότητά τους στα ζώα. Λόγω αυτών των χαρακτηριστικών, ορισμένα αντιβιοτικά έχουν αξιοσημείωτες χημειοθεραπευτικές δυνατότητες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο διαφόρων μικροβιακών λοιμώξεων σε ανθρώπους και ζώα» (Bentley & Bennett, 2003).

Με την εξέλιξη της επιστήμης, ο ορισμός διευρύνθηκε ώστε να συμπεριλάβει και τα τεχνητά ή ημιτεχνητά αντιβιοτικά. Έτσι, «Τα αντιβιοτικά είναι οργανικές ενώσεις, που παράγονται από δευτερογενή προϊόντα του μεταβολισμού μικροοργανισμών, ή συντίθενται τεχνητά ή ημι – τεχνητά, μέσω συνθετικών οδών, και χρησιμεύουν είτε στο θάνατο μικροοργανισμών είτε παρεμβαίνουν σε βασικές βιοχημικές διεργασίες του μεταβολισμού παρεμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξή τους».(Etebu & Arikekpar, 2016).

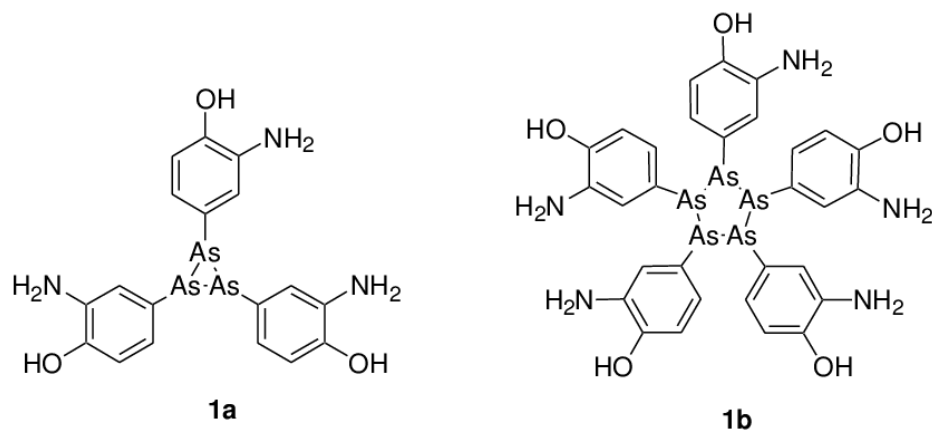
1.2 Ιστορική εξέλιξη αντιβιοτικών

Αν και τα αντιβιοτικά ανακαλύφθηκαν επίσημα στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, η χρησιμοποίησή ορισμένων μικροοργανισμών για την πρόληψη ασθενειών ή για την

αποτροπή επιπλοκών έχει ξεκινήσει χιλιετίες νωρίτερα. Για παράδειγμα, υπάρχουν αναφορές για την χρήση καταπλασμάτων μουχλιασμένου ψωμιού από την 2^η χιλιετία π.Χ στις περιοχές της Σερβίας, της Κίνας, της Ελλάδας και της Αιγύπτου. Το πιο παλιό και καλά διατηρημένο ιατρικό έγγραφο που στον κατάλογο των θεραπειών του κάνει αναφορά σε μουχλιασμένο ψωμί και φαρμακευτικό χώμα είναι ο πάπυρος του Eber, ο οποίος χρονολογείται από το 1550 π.Χ. και σήμερα φυλάσσεται στο πανεπιστήμιο της Λειψίας (Hutchingsetal., 2019).

Στις μεσαιωνικές κοινωνίες, χρησιμοποιήθηκαν διάφορες φυσικές ουσίες ως μία πιθανή πηγή αντιμετώπισης των μικροβιακών λοιμώξεων. Οι Harrisonetal. (2015) εντόπισαν και αναδόμησαν ένα φάρμακο από ένα αγγλοσαξονικό βιβλίο του 10^{ου} αιώνα μ.Χ. το οποίο αναφέρεται σε βδέλλες. Το φάρμακο αυτό χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση του *Staphylococcus aureus* ανθεκτικού στην μεθικιλίνη σε invitro μοντέλο μόλυνσης μαλακών ιστών και παρατηρήθηκε ότι ήταν αποτελεσματικό κατά επανάληψη (Harrisonetal., 2015).

Η ανάπτυξη των αντιμολυσματικών φαρμάκων, βασισμένη σε επιστημονικά δεδομένα ξεκίνησε στην πρώτη δεκαετία του 20^{ου} αιώνα όπου ο Paul Ehrlich (1845-1915) ανέπτυξε ένα συνθετικό «προ-φάρμακο», δηλαδή μία φαρμακευτική ουσία η οποία μέσα στον οργανισμό μετατρέπεται σε άλλη ουσία, δραστική εναντίον της ασθένειας. Η ουσία αυτή ήταν η αρσφεναμίνη ή σαλβαρασάνη (salvarsan), η οποία χρησιμοποιήθηκε για την θεραπεία από τον *Treponemapallidum*, ο οποίος προκαλεί τη σύφιλη. Η αρσφεναμίνη (salvarsan) αντικαταστάθηκε το 1930 από την ουσία protosil, η οποία είναι ένα προ-φάρμακο σουλφοναμιδίου και ανακαλύφθηκε από τον GerhardJohannesPaulDomagk (1895-1964), έναν ερευνητή παθολόγο στη Bayer, ο οποίος χρησιμοποίησε το φάρμακο για να σώσει το χέρι της κόρης του από ακρωτηριασμό. Τα σουλφοναμίδια αποτέλεσαν τα πρώτα πραγματικά αποτελεσματικά, αντιμικροβιακά ευρέως φάσματος στην κλινική χρήση και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται σήμερα, αλλά αντικαταστάθηκαν σε μεγάλο βαθμό από την τυχαία ανακάλυψη της πενικιλίνης, που παρατηρήθηκε σε μολυσμένο πιάτο Petri από τον AlexanderFleming (1881 -1955) το 1928 (Hutchingsetal., 2019).



Salvarsan

Εικόνα1: Δομές της αρσφεναμίνης, γνωστής και ως Salvarsan, το οποίο είναι ένα μείγμα ενώσεων με αρσενικό

Πηγή: https://www.researchgate.net/figure/Structures-of-Salvarsan-Salvarsan-consists-of-a-mixture-of-cyclic-arsenicals-1a-and_fig1_270275231

Ο Sir Alexander Fleming παρατήρησε ότι ένα τρυβλίο petri στο οποίο είχαν καλλιεργηθεί αποικίες *Staphylococcus Aureus*, επιμολύνθηκε με μούχλα και οι βακτηριακές αποικίες θανατώθηκαν. Απομόνωσε, λοιπόν, από την μολυσμένη περιοχή των μύκητα *Penicillium notatum* και από αυτόν τον μύκητα απομόνωσε την ουσία η οποία προκάλεσε τον θάνατο των αποικιών του σταφυλόκοκκου. Τα αποτελέσματα της έρευνας του τα ανέφερε για πρώτη φορά τον επόμενο χρόνο, το 1929, ενώ για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε δοκιμαστικά στον άνθρωπο το 1940 (Etebu & Arikekrar, 2016).

Τα αντιμικροβιακά φάρμακα θεωρούνται ένας από τους σημαντικότερους σταθμούς της σύγχρονης ιατρικής. Η ανακάλυψή τους επέτρεψε στους γιατρούς να καταπολεμήσουν αποτελεσματικά σοβαρές λοιμώξεις από βακτήρια.

Στον παρακάτω πίνακα, παρουσιάζονται τα περισσότερα από τα αντιβιοτικά που μέχρι σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί για κλινική χρήση, ο μικροοργανισμός από τον οποίο προέρχονται και ο μηχανισμός δράσης τους.

Πίνακας 1: Αντιβιοτικά ανάλογα με τον μικροοργανισμό από τον οποίο προέρχονται, τον στόχο και μηχανισμός δράσης

Class ^a	Discover y reported ^b	Introduce d clinically	Example (and producing organism)	Molecular target
Antibiotics from actinomycetes				
Aminoglycosides	1944	1946	Kanamycin A (<i>Streptomyces kanamyceticus</i>)	Protein synthesis: 30S ribosomal subunit

Tetracyclines	1948	1948	Tetracycline(<i>Streptomyces aureofaciens</i>)	Protein synthesis: 30S ribosomal subunit
Amphenicols	1947	1949	Chloramphenicol(<i>Streptomyces venezuelae</i>)	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Macrolides	1952	1952	Erythromycin(<i>Saccharopolyspora erythraea</i>)	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Tuberactinomycins	1951	1953	Viomycin (<i>Streptomyces puniceus</i>)	Protein synthesis: 30S and 50S ribosomal subunits (binds to the intersubunit bridge B2a)
Glycopeptides	1954	1958	Vancomycin (<i>Amycolatopsis orientalis</i>)	Cell wall synthesis: D-Ala-D-Ala termini of lipid II
Lincosamides	1962	1963	Clindamycin Semi-synthetic derivative of lincomycin (<i>Streptomyces lincolnensis</i>)	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Ansamycins	1959	1963	Rifamycin SV Semi-synthetic derivative of rifamycin (<i>Amycolatopsis rifamycinica</i>)	Nucleic acid synthesis: RNA polymerase
Cycloserines	1955	1964	Seromycin (<i>Streptomyces orchidaceus</i>)	Cell wall synthesis: inhibition of alanine racemase and D-alanine-D-alanine ligase
Streptogramins	1953	1965	Pristinamycin(<i>Streptomyces pristinaespiralis</i>)	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Phosphonates	1969	1971	Fosfomycin (<i>Streptomyces fradiae</i>)	Cell wall synthesis: MurA (UDP-GlcNAc-3-enolpyruvyltransferase) inhibition
Carbapenems	1976	1985	Meropenem Synthetic molecule based on thienamycin (<i>Streptomyces cattleya</i>)	Cell wall synthesis: penicillin-binding proteins
Lipopeptides	1987	2003	Daptomycin(<i>Streptomyces roseosporus</i>)	Cell wall: cell membrane disruption.
Lipiarmycins	1975	2011	Fidaxomicin (<i>Dactylosporangium aurantiacum</i> subsp. <i>hamdenesis</i>)	Nucleic acid synthesis: RNA polymerase
Antibiotics from other bacteria				
Polypeptides	1939	1941	Gramicidin A (<i>Bacillus brevis</i>)	Cell wall: forms ion channels that increase the permeability of the bacterial cell

				membrane
Bacitracin	1945	1948	Bacitracin A (<i>Bacillus subtilis</i>)	Cell wall synthesis: inhibition of dephosphorylation of C ₅₅ -isoprenyl pyrophosphate
Polymyxins	1950	1959	Colistin (<i>Paenibacillus polymyxa</i>)	Cell wall: cell membrane disruption
Mupirocin	1971	1985	Mupirocin (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	Protein synthesis: isoleucyl t-RNA synthetase
Monobactams	1981	1986	Aztreonam Synthetic molecule based on SQ 26,180 (<i>Chromobacterium violaceum</i>)	Cell wall synthesis: penicillin-binding proteins
Antibiotics from fungi				
Penicillins	1929	1943	Amoxicillin Semi-synthetic derivative of penicillin (<i>Penicillium chrysogenum</i>)	Cell wall synthesis: penicillin-binding proteins
Fusidic acid	1958	1962	Fusidic acid (<i>Fusidium coccineum</i>)	Protein synthesis: elongation factor G
Enniatins ^c	1953	1963	Fusafungine (<i>Fusarium lateritium</i>)	Cell wall: cell membrane disruption
Cephalosporins	1948	1964	Cefacetrile Semi-synthetic derivative of cephalosporin C (<i>Acremonium chrysogenum</i>)	Cell wall synthesis: penicillin-binding proteins
Pleuromutilins	1951	2007	Retapamulin Semi-synthetic derivative of pleuromutilin (<i>Pleurotus mutilus</i>)	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Synthetic antibiotics				
Arsphenamines ^d	1907	1910	Salvarsan	Not known
Sulfonamides	1932	1936	Mafenide	Folate synthesis: inhibition of dihydropteroate synthetase
Salicylates ^e	1902	1943	4-Aminosalicylic acid	Folate synthesis: prodrug that inhibits dihydrofolate reductase
Sulfones	1908	1945	Dapsone	Folate synthesis: inhibition of dihydropteroate synthetase
Pyridinamides	1952	1952	Isoniazid	Cell wall: prodrug that inhibits the synthesis of mycolic acids
Nitrofurans	1945	1953	Nitrofurantoin	DNA synthesis: DNA damage
Azoles ^f	1959	1960	Metronidazole	DNA synthesis:

(Fluoro)quinolones	1962	1962	Ciprofloxacin	DNA damage DNA synthesis: inhibition of DNA gyrase, and topoisomerase IV
Diaminopyrimidines	1950	1962	Trimethoprim	Folate synthesis: inhibition of dihydrofolate reductase
Ethambutol	1962	1962	Ethambutol	Cell wall: arabinosyl transferase inhibition
Thioamides	1956	1965	Ethionamide	Cell wall: prodrug that inhibits the synthesis of mycolic acids
Phenazines ^f	1954	1969	Clofazimine	DNA synthesis: binds to guanine bases
Oxazolidinones	1987	2000	Linezolid	Protein synthesis: 50S ribosomal subunit
Diarylquinolines	2004	2012	Bedaquiline	ATP synthesis: proton pump inhibition

Πηγή: Hutchings et al., 2019

1.3 Ταξινόμηση αντιβιοτικών

Η ταξινόμηση των αντιμικροβιακών φαρμάκων πραγματοποιείται με διάφορα κριτήρια. Ένας πολύ βασικός διαχωρισμός είναι ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών που καλούνται να αντιμετωπίσουν. Διακρίνονται σε : αντιβακτηριακά, αντιμυκητοβακτηριακά, αντιϊικά, αντιμυκητιακά και αντιπαρασιτικά φάρμακα (Etebu & Arikekpar, 2016).

Ο όρος αντιβιοτικό, αν και είναι γενική έννοια και ταυτόσημος με την φράση αντιμικροβιακό φάρμακο, συχνά χρησιμοποιείται για να δηλώσει αποκλειστικά τα αντιβακτηριακά φάρμακα.

Ανάλογα με το εύρος ή φάσμα δράσης τους, τα αντιβιοτικά μπορούν να διαχωριστούν σε δύο υποκατηγορίες (Almulhim & Alotaibi, 2018) :

- **Αντιβιοτικά στενού φάσματος (Narrow-Spectrum Antibiotics - NSAs).**
Πρόκειται για εκείνα τα αντιβιοτικά που στοχεύουν σε ένα επιλεγμένο τύπο βακτηρίων και μικροβίων. Τα αντιβιοτικά στενού φάσματος χρησιμοποιούνται

σε μολύνσεις όπου ο παθογόνος μικροοργανισμός έχει ταυτοποιηθεί και σε αυτή την περίπτωση το αντιβιοτικό συνήθως δεν επηρεάζει το σύνολο των μικροοργανισμών που φιλοξενούνται στο σώμα. Για παράδειγμα η πενικιλίνη είναι χρήσιμη κυρίως κατά των Gram (+) θετικών βακτηρίων, ή η στρεπτομυκίνη έχει ισχυρή δράση κυρίως κατά των Gram (-) αρνητικών μικροοργανισμών.

- **Αντιβιοτικά ευρέως φάσματος (Broad-Spectrum Antibiotics - BSAs).** Ο όρος "αντιβιοτικά ευρέως φάσματος ή BSA" χρησιμοποιήθηκε αρχικά για τα αντιμικροβιακά φάρμακα που ήταν αποτελεσματικά τόσο κατά Gram (+) θετικών όσο και κατά Gram (-) αρνητικών βακτηρίων, όπως είναι η ρικέτσια (*Rickettsia*), ή οι υπεύθυνοι μικροοργανισμοί για την πλευροπνευμονία σε ανθρώπους και ζώα, καθώς και για ορισμένα πρωτόζωα. Παραδείγματα αντιβιοτικών ευρέως φάσματος περιλαμβάνουν αζιθρομυκίνη καθώς και κλαριθρομυκίνη κ.λπ.

Τα αντιβιοτικά μπορούν επίσης να διαχωριστούν σε δύο βασικούς τύπους ανάλογα με τον τρόπο δράση τους έναντι των βακτηρίων:

- **Βακτηριοκτόνα** λέγονται τα αντιβιοτικά που καταστρέφουν ολόκληρα τα βακτήρια
- **Βακτηριοστατικά** λέγονται τα αντιβιοτικά που αναστέλλουν την ανάπτυξη βακτηρίων χωρίς να σκοτώνουν όμως τα κύτταρα.

Σε ένα μολυσμένο οργανισμό, μετά την καταστροφή των βακτηριακών κυττάρων ή την αναστολή της ανάπτυξης του, η ανοσοποιητική διαδικασία αναλαμβάνει να καθαρίσει τον οργανισμό από την μόλυνση. Το ανοσοποιητικό σύστημα εξαλείφει όλα τα παθογόνα υπολείμματα (Naveed et al., 2020)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΧΡΗΣΗ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

2.1 Εισαγωγή

Στο ανθρώπινο σώμα φιλοξενείται ένα ολόκληρο μικροβιακό οικοσύστημα. Έχουν εντοπισθεί περισσότερα από 10^{14} μικροβιακά κύτταρα που ανήκουν σε χιλιάδες διαφορετικά είδη μυκήτων, πρωτόζωων και βακτηρίων. Αυτοί οι μικροοργανισμοί αναφέρονται σαν φυσική ή φυσιολογική χλωρίδα και κατοικούν στην πλειοψηφία τους στο στόμα, τον κόλπο, το δέρμα και το παχύ έντερο του ανθρώπου. Επιπλέον, το ανθρώπινο σώμα μπορεί να φιλοξενεί και ορισμένους ιούς με τους οποίους έχει μολυνθεί (Naveedetal., 2020).

Ορισμένοι από αυτούς τους μικροοργανισμούς αυτούς είναι παθογόνοι και μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες στον άνθρωπο, ενώ ορισμένοι άλλοι είναι δυνητικά παθογόνοι, δηλαδή μπορούν να προκαλέσουν μόλυνση όταν αποικίζουν μέρη του σώματος τα οποία φυσιολογικά θα έπρεπε να είναι στείρα, όπως συμβαίνει κατά την διάτρηση του εντέρου όπου η εντερική μικροχλωρίδα μεταφέρεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα και προκαλεί περιτονίτιδα ή όταν ο αριθμός τους αυξηθεί σημαντικά πάνω από το φυσιολογικό. Οι παθογόνοι παράγοντες που εισβάλουν σε έναν οργανισμό, όπως κατά τη διάρκεια ενός τραυματισμού ή όταν ο οργανισμός αυτό έχει εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, μπορούν συχνά να αναπτύσσονται χωρίς να ισχύουν συγκεκριμένες συνθήκες. Βιοχημικοί και κυτταρικοί φραγμοί παραβιάζονται από αυτά τα παθογόνα και προκαλούν αποκρίσεις από τον ξενιστή στον οποίο εισβάλουν, οδηγώντας στην ανάπτυξη ειδικών μηχανισμών ώστε να εξασφαλίσουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους (Naveedetal., 2020).

Οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορούν να προκαλέσουν ασθένεια σε έναν άνθρωπο είναι πολλοί. Οι πιο κοινοί παθογόνοι είναι οι ιοί και τα βακτήρια. Τα ιικά κύτταρα αποτελούνται από ένα νουκλεϊκό οξύ, είτε DNA είτε RNA που συνήθως περικλείονται μέσα σε μία πρωτεϊνική κάψα. Για τις διαδικασίες της μεταγραφής, της μετάφρασης και την αναπαραγωγή τους, οι ιοί χρησιμοποιούν μηχανισμούς και οργανίδια που έχει ο ξενιστής. Τα βακτηριακά κύτταρα είναι πιο μεγάλα και πιο πολύπλοκα από τα κύτταρα των ιών. Είναι ζωντανά, ανεξάρτητα κύτταρα που

χρησιμοποιούν τον ξενιστή για να λάβουν τα απαραίτητα διατροφικά στοιχεία ώστε να μπορούν να εκτελέσουν τις μεταβολικές λειτουργίες τους (Naveedetal., 2020).

2.2 Χρήση αντιβιοτικών και στην κτηνοτροφία

Τα αντιβιοτικά δεν περιορίστηκαν μόνο στην ανθρώπινη ιατρική, αλλά βρήκαν εφαρμογή και στην κτηνιατρική, τόσο στα κατοικίδια όσο και στα παραγωγικά ζώα. Στα ζώα τα αντιβιοτικά δεν είχαν μόνο θεραπευτικό ρόλο. Οι κυριότεροι λόγοι της χρήσης αντιβιοτικών στην κτηνοτροφία είναι (Vanetal., 2020):

- Για θεραπεία: Τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για τη θεραπευτική αγωγή που χρησιμοποιείται για τα ζώα είναι παρόμοια με αυτά που χρησιμοποιούνται και για τον άνθρωπο, δηλαδή αναζητείται η μικρότερη δόση κατάλληλου φαρμάκου για το μικρότερο χρονικό διάστημα. Αν τυχόν τα μολυσμένα ζώα βρίσκονται σε επαφή με άλλα ζώα συχνά είναι προτιμότερο να προστίθεται το αντιβιοτικό στον νερό ή στις ζωοτροφές.
- Για μεταφύλαξη. Είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να δηλώσει ότι τα αντιμικροβιακά φάρμακα έχουν στόχο να καταπολεμήσουν και σταματήσουν την εξάπλωση του ιού. Αυτό σημαίνει ότι η χρήση τους δεν είναι μόνο θεραπευτική αλλά και προληπτική.
- Για πρόληψη. Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται πριν κάποιο από τα ζώα που φιλοξενούνται αρρωστήσει ή εμφανίσει σημάδια ασθένειας. Συνήθως, χορηγούνται κατά τις περιόδους όπου ο κίνδυνος κάποιας μολυσματικής ασθένειας είναι υψηλός.
- Ως αυξητικοί παράγοντες, για να βελτιώσουν τον ρυθμό ανάπτυξης των ζώων, να αποκομίσουν αναπαραγωγικά οφέλη.

2.3 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών

Η δράση των αντιβιοτικών βασίζεται σε πολύπλοκους μηχανισμούς που αποσκοπούν στην εξάλειψη του κυττάρου των παθογόνων μικροοργανισμών, όπως των βακτηρίων. Τα βακτηριακά και τα ανθρώπινα κύτταρα παρουσιάζουν ομοιότητες ως προς τα οργανίδια, τη δομή και τις λειτουργίες που εκτελούν, αλλά παρουσιάζουν επίσης πολλές και σημαντικές διαφορές. Τα αντιβιοτικά, λοιπόν, λειτουργούν στοχεύοντας κυρίως στα στοιχεία εκείνα που περιέχονται στα βακτηριακά κύτταρα

αλλά δεν συναντώνται στα ανθρώπινα κύτταρα. Έτσι, η αντιμικροβιακή δράση των αντιβιοτικών συχνά στοχεύει είτε στην καταστροφή του περιεχομένου γονιδιώματος είτε στα οργανίδια που ανήκουν αποκλειστικά στα βακτηριακά κύτταρα (Naveedetal., 2020).

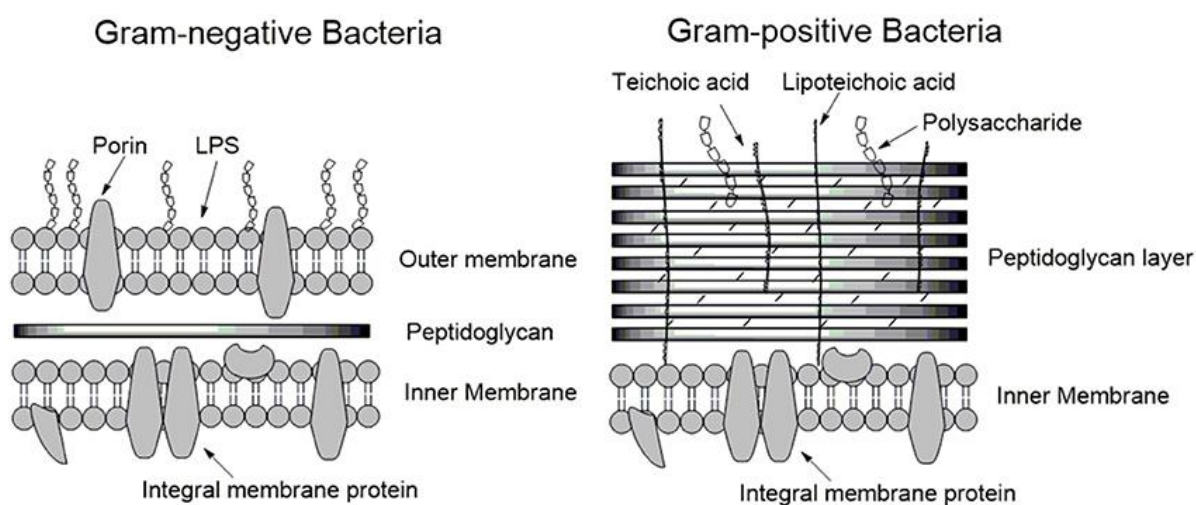
Η στόχευση των παθογόνων μικροοργανισμών που καταστρέφονται από αντιβιοτικά κυμαίνεται από μη ειδική έως εξειδικευμένη. Ωστόσο, το μοτίβο της καταστροφής των μικροοργανισμών παραμένει πάντα το ίδιο. Τα αντιβιοτικά, όταν εισέλθουν στον μολυσμένο οργανισμό λειτουργούν ως «επιθεωρητές κυττάρων» και εντοπίζουν τις διαφορές παρουσιάζονται ανάμεσα στα φυσιολογικά υγιή κύτταρα του οργανισμού και στα βακτηριακά κύτταρα. Σε ορισμένες περιπτώσεις, χρησιμοποιούν τα αντιγόνα που υπάρχουν στην επιφάνεια των τοιχωμάτων των βακτηρίων. Αυτές οι αντιγονικές θέσεις είναι οι ίδιες που χρησιμοποιούνται και από το ανοσοποιητικό σύστημα για την παραγωγή αντισωμάτων και την αντιμετώπιση της μόλυνσης με φυσικό τρόπο. Στην περίπτωση των αντιβιοτικών, οι αντιγονικές θέσεις χρησιμοποιούνται από τα αντιβιοτικά για να εντοπίσουν και να θανατώσουν τα βακτήρια-στόχο μέσα στο σώμα. Επίσης, οι περιοχές του σώματος στις οποίες οδηγούνται και δρουν τα αντιβιοτικά εκπέμπουν κάποια χημικά σήματα στο ανοσοποιητικό σύστημα, τα οποία αναγνωρίζονται από τα αντιβιοτικά και αποδεικνύεται ότι είναι ευεργετικά για την αντιμετώπιση της μόλυνσης (Naveedetal., 2020).

Ένα παράδειγμα της αντιμικροβιακής δράσης, στηρίζεται στο γεγονός ότι τα κύτταρα του ανθρώπινου σώματος δεν παρουσιάζουν κυτταρικά τοιχώματα, ενώ πολλά είδη βακτηρίων αντίθετα έχουν κυτταρικό τοίχωμα. Η δράση του αντιβιοτικού πενικιλίνης, λοιπόν, βασίζεται στην αποτροπή της κατασκευής του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Επίσης, τα βακτήρια και τα ανθρώπινα κύτταρα παρουσιάζουν διαφορά στη δομή της κυτταρικής τους μεμβράνης και στους μηχανισμούς που χρησιμοποιούν κατά την πρωτεϊνοσύνθεση και την αντιγραφή του DNA. Ορισμένα, λοιπόν, αντιβιοτικά επικεντρώνονται στην καταστροφή των μεμβρανών των βακτηριακών κυττάρων, ενώ άλλα παρεμβαίνουν στην πρωτεϊνοσύνθεση και στα στάδια της αντιγραφής του DNA που παρουσιάζονται αποκλειστικά στα βακτήρια (Naveedetal., 2020).

Συνοπτικά, οι κυριότεροι μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών είναι (Naveedetal., 2020):

1. Αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος ή καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος με τη βοήθεια ενζύμων
2. Αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης (μεταγραφή και μετάφραση)
3. Αναστολή της διαδικασίας σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων
4. Αλλοίωση της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης
5. Αναστολή ορισμένων μεταβολικών διαδικασιών

2.3.1 Αναστολή της σύνθεσης ή καταστροφή του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων



Εικόνα2: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού τοιχώματος των Gram (-) αρνητικών και των Gram (+) θετικών βακτηρίων
Πηγή: Lietal., 2017

Στην παραπάνω εικόνα παρουσιάζεται η σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού τοιχώματος των Gram (-) αρνητικών βακτηρίων (αριστερά) και των Gram (+) βακτηρίων (δεξιά). Η εσωτερική ή κυτταροπλασματική μεμβράνη και των δύο ομάδων βακτηρίων είναι παρόμοια. Ωστόσο, τα κυτταρικά τους τοιχώματα, τα οποία περιβάλλουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη, παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές, οι οποίες άλλωστε οδηγούν και στον διαχωρισμό τους σε θετικά και αρνητικά. Στα θετικά κατά Gram βακτήρια, υπάρχει ένα παχύ στρώμα πολυμερών μορίων πεπτιδογλυκάνης, όπου διάσπαρτα ανάμεσα τους βρίσκονται μόρια τειχοϊκών και λιποτειχοϊκών οξέων, αρνητικά φορτισμένων. Το στρώμα αυτό βοηθάει το βακτηριακό κύτταρο να διατηρήσει την ακαμψία τους. Αντίθετα, τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια έχουν μία στιβάδα πεπτιδογλυκάνης πολύ λεπτότερη, η οποία εξωτερικά περιβάλλεται από μια επιπλέον μεμβράνη. Η εσωτερική κυτταροπλασματική μεμβράνη αποτελείται στο μεγαλύτερο ποσοστό από

φωσφορικά λιπίδια και στις δύο ομάδες βακτηρίων, ενώ η εξωτερική μεμβράνη του των Gram (-) αρνητικών βακτηρίων αποτελείται κυρίως από μόρια λιποπολυσακχαριτών(LPS) και φέρει ανοίγματα που καλούνται πορίνες. Τα μόρια λιποσακχαριτών (LPS)έχουν διάσπαρτα τοποθετημένα μεγάλο αριθμό αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων που σχηματίζουν γέφυρες με διάφορα άλατα, κυρίως με δισθενή κατιόντα, όπως ασβέστιο Ca^{2+} και μαγνήσιο Mg^{2+} , με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ηλεκτροστατικού δικτύου. Αυτή η ηλεκτροστατική περιοχή χρησιμεύει ως πρωταρχικό φράγμα στα περισσότερα υδρόφοβα αντιβιοτικά, με αποτέλεσμα τη χαμηλή διαπερατότητα τους (Lietal., 2017).

Τα αντιβιοτικά φάρμακα που αναστέλλουν τη λειτουργία του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος ουσιαστικά προκαλούν αρχικά την εξασθένησή του και έπειτα τη λύση του τοιχώματος (Naveedetal., 2020).Το κύριο δομικό συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος είναι, όπως αναφέρθηκε, η πεπτιδογλυκάνη, ένα πολυμερές που αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες δισακχαρίτη-πολυπεπτιδίων που έχουν την ικανότητα να πολυμερίζονται ώστε να δημιουργήσουν ένα συνεχές δίκτυο μορίων γύρω από το κύτταρο. Στη βιοσύνθεση της πεπτιδογλυκάνης συμμετέχουν περισσότερες από 10 πρωτεΐνες. Διαφορετικοί αναστολείς του κυτταρικού τοιχώματος στοχεύουν σε διακριτά βήματα στη διαδικασία της βιοσύνθεσης της πεπτιδογλυκάνης, τα οποία συσχετίζονται από την αναστολή της παραγωγής του δισακχαρίτη στο εσωτερικό του κυττάρου, όπως συμβαίνει με τη φωσφομυκίνη, μέχρι και την παρεμπόδιση της διασταυρούμενης σύνδεσης πεπτιδικών στελεχών έξω από το κύτταρο, όπως η πενικιλίνη (Romaniuk&Cegelski, 2015).

Παραδείγματα αυτής της κατηγορίας αντιβιοτικών αποτελούν η πενικιλίνη και η βανκομυκίνη με δράση έναντι των κατά Gram (+) θετικών βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένου και του *Staphylococcus aureus*. Σημειώνεται ότι ο *Staphylococcus aureus* βρίσκεται φυσιολογικά στο δέρμα και σε ορισμένες βλεννογόνους ενός υγιούς οργανισμού, αλλά αν αποικίσει σε ανεπιθύμητες θέσεις είναι ένα επικίνδυνο και ανθεκτικό παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα, βακτηραιμία και σήψη (Romaniuk&Cegelski, 2015).

2.3.2 Αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης

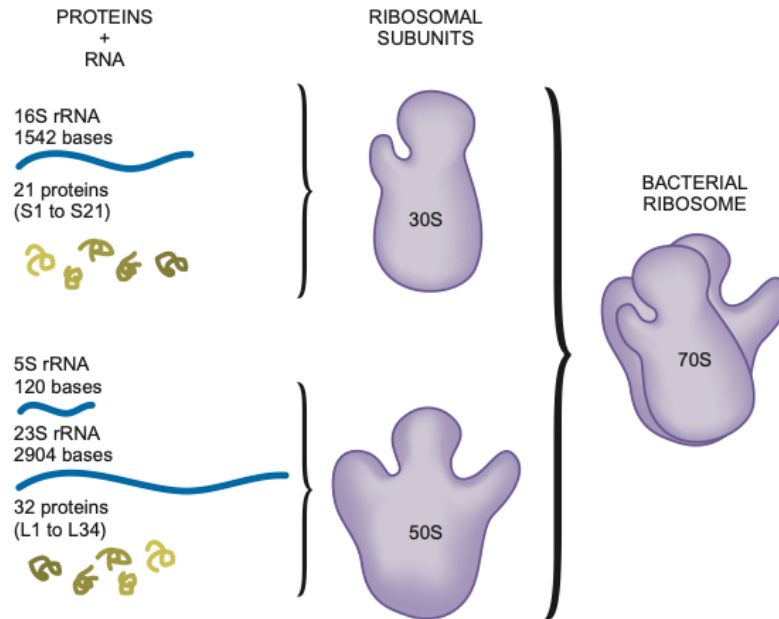
Τα αμινοξέα σχηματίζουν πολυμερή μόρια, τα οποία ονομάζονται πρωτεΐνες. Υπάρχουν 22 αμινοξέα τα οποία είναι γενετικά κωδικοποιημένα και τα οποία

μπορούν να ενσωματωθούν και να σχηματίσουν πρωτεϊνικές αλυσίδες κατά την πρωτεϊνική σύνθεση στα ριβοσώματα. Δύο από αυτά, η σεληνοκυστεΐνη (selenocysteine) και η πυρρολυσίνη (pyrrolysine), χρησιμοποιούνται μόνο υπό ειδικές συνθήκες και συνήθως όχι από τον ανθρώπινο οργανισμό. Το αγγελιοφόρο mRNA μεταφέρει τις πληροφορίες για την παραγωγή μίας πρωτεΐνης στο ριβόσωμα όπου και πραγματοποιείται η διαδικασία της αποκωδικοποίησης της πρωτεΐνης, δηλαδή η μετάφραση (Clarketal., 2019).

Το ριβόσωμα το οποίο είναι ένα οργανίδιο, μια υπομικροσκοπική μηχανή, η οποία αποτελείται από δύο υπομονάδες, μία μικρή και μία μεγάλη υπομονάδα. Η μικρή υπομονάδα φέρει μία θέση στην οποία προσδένεται το mRNA, ώστε να ξεκινήσει η μετάφραση, ενώ η μεγάλη ομάδα φέρει δύο θέσεις για την είσοδο του tRNA. Η μετάφραση ξεκινάει από το 5' άκρο του mRNA. Το ριβόσωμα μετακινείται κατά μήκος της αλυσίδας του mRNA, και κάθε κωδικόνιο (τριπλέτανουκλεοτιδίων) «διαβάζεται», δηλαδή μόρια tRNA που φέρουν τα αντίστοιχα αντικωδικόνια (συμπληρωματική του κωδικονίουτριπλέτανουκλεοτιδίων) μεταφέρουν τα κατάλληλα μόρια αμινοξέων στην αντίστοιχη θέση τους στην πολυπεπτιδική αλυσίδα (Clarketal., 2019).

Το ριβόσωμα και τα συστατικά του αναλύθηκαν αρχικά με υπερφυγοκέντρηση. Κατά συνέπεια, τα μεγέθη αναφέρονται σε μονάδες Svedberg (τιμή S), οι οποίες είναι μονάδες χρόνου και μετρούν την ταχύτητα καθίζησης. Αν και οι υψηλότερες τιμές S υποδηλώνουν μεγαλύτερα σωματίδια, άρα και μεγαλύτερο χρόνο καθίζησης, οι τιμές S δεν είναι ευθέως ανάλογη με τη μοριακή μάζα. Το βακτηριακό ριβόσωμα (70S) αποτελείται από δύο υπομονάδες, την 50S η μεγάλη υπομονάδα και την 30S η μικρή υπομονάδα. Το βακτηριακό ριβόσωμα περιέχει τρία μόρια rRNA (ριβωσωμικόRNA) που αποτελούν περίπου τα δύο τρίτα της μάζας του. Το υπόλοιπο ένα τρίτο της μάζας του ριβοσώματος αποτελείται από περίπου 60 μικρές πρωτεΐνες (Clarketal., 2019)

Όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα, η υπομονάδα 30S περιέχει το 16S rRNA και 26 από τις πρωτεΐνες, ενώ η υπομονάδα 50S περιέχει το 5S και 23S rRNA, καθώς και τις υπόλοιπες 32 μικρές πρωτεΐνες.



Εικόνα3: Σύνθεση του βακτηριακού ριβοσώματος

Πηγή: Clarketal., 2019

Τα αντιβιοτικά που αναστέλλουν τη σύνθεση πρωτεϊνών χρησιμοποιούνται ευρέως. Οι αμινογλυκοσίδες και οι τετρακυκλίνες είναι θετικά φορτισμένα αντιβιοτικά, τα οποία αρχικά επικάθονται και προσκολλώνται στην αρνητικά φορτισμένη εξωτερική μεμβράνη του βακτηριακού τοιχώματος, με αποτέλεσμα να δημιουργούν μεγάλους πόρους που επιτρέπουν την είσοδο και τη διάχυση των αντιβιοτικών στο εσωτερικό του κυττάρου (Naveedetal., 2020).

Πιο συγκεκριμένα, τα αμινογλυκοσιδικά αντιβιοτικά συνδέονται με την υπομονάδα 30S, με αποτέλεσμα να επηρεάζεται η ριβοσωμική λειτουργία και να προκαλείται αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης. Τα πιο γνωστά αμινογλυκοσιδικά αντιβιοτικά είναι η στρεπτομυκίνη, η γενταμικίνη, η νετιλμικίνη και η αμικασίνη. Η στρεπτομυκίνη, για παράδειγμα, συνδέεται με το 16S rRNA, κοντά στο σημείο που έρχονται σε επαφή οι δύο υπομονάδες του ριβοσώματος. Η σύνδεση της στρεπτομυκίνης με το ριβόσωμα αλλοιώνει την A-θέση, δηλαδή τη θέση έναρξης της μετάφρασης (εκκινητή) και εμποδίζει το εισερχόμενο tRNA-αμινοξύ να δεσμευτεί. Συγκεκριμένα, αναστέλλεται η δέσμευση του εκκινητή tRNA-μεθειονίνη και έτσι αποτρέπεται η έναρξη της μετάφρασης, άρα και η παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Πολλές από τις υπόλοιπες αμινογλυκοσίδες, όπως η γενταμικίνη και η καναμυκίνη, διαφοροποιούν τον τρόπο δράσης τους. Δεν εμποδίζουν την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης, αλλά παρεμβαίνουν στην εξέλιξη και στην ολοκλήρωσή της

διαδικασίας. Προσδένοντα ισε πολλαπλές θέσεις πάνω στην υπομονάδα 30S και έτσι παρεμποδίζουν την επιμήκυνση της πρωτεϊνικής αλυσίδας. Τα αμινογλυκοσιδικά αντιβιοτικά είναι υπεύθυνα για λανθασμένη ανάγνωση του αγγελιαφόρου mRNA (Clarketal., 2019).

Μία ακόμη κατηγορία αντιβιοτικών, τα οποία αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση των μικροοργανισμών, επηρεάζοντας τη λειτουργία των ριβοσωμάτων, είναι οι τετρακυκλίνες. Οι τετρακυκλίνες είναι αποτελεσματικές τόσο εναντίον των προκαρυωτικών, βακτηριακών κυττάρων όσο και εναντίον ορισμένων ευκαρυωτικών κυττάρων. Οι τετρακυκλίνες συνδέονται με το 16S rRNA (ή με το 18S rRNA, στην περίπτωση των ευκαρυωτικών κυττάρων) στην μικρή υπομονάδα (30S) του ριβοσώματος των βακτηρίων, παρεμποδίζοντας έτσι τη σύνδεση του tRNA-αμινοξέος στο σύμπλεγμα mRNA-ριβόσωμα. Παρά το γεγονός ότι μπορούν να προκαλέσουν αναστολή στα ριβοσώματα προκαρυωτικών και ορισμένων ευκαρυωτικών κυττάρων, δεν αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση των κυττάρων των θηλαστικών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η κυτταροπλασματική μεμβράνη των προκαρυωτικών κυττάρων φέρει ορισμένες ενεργειο-εξαρτώμενες πρωτεΐνες που βοηθούν στη συσσώρευση και στην είσοδο των τετρακυκλινών στο κύτταρο και οι οποίες λείπουν από τα κύτταρα των θηλαστικών(Clarketal., 2019).

Ορισμένα αντιβιοτικά αναστέλλουν την πρωτεϊνική σύνθεση αναστέλλοντας την λειτουργία της πεπτιδυλοτρανσφεράσης. Η πεπτιδυλοτρανσφεράση είναι ένα ένζυμο το οποίο καταλύει τον σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού μεταξύ των γειτονικών αμινοξέων μίας πρωτεΐνης. Όταν, για παράδειγμα, η χλωραμφαινικόλη, η οποία είναι ένα αντιβιοτικό ευρέως φάσματος ή η ερυθρομυκίνη, η οποία ανήκει στις μακρολίδες, εισέρχονται στο κύτταρο, συνδέονται με το 23S rRNA στην μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα 50S, αλληλεπιδρούν με το στέλεχος αποδέκτη του tRNA και αναστέλλουν την λειτουργία της πεπτιδυλοτρανσφεράσης, αναστέλλοντας ουσιαστικά με αυτόν τον τρόπο την πρωτεϊνοσύνθεση(Clarketal., 2019).

Το φουσιδικό οξύ είναι ένα αντιβιοτικό που δρα κυρίως εναντίον των Gram (+) βακτηρίων. Είναι στεροειδές παράγωγο και η δράση του στηρίζεται στην αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης των βακτηρίων, παρεμβαίνοντας στη λειτουργικότητα του παράγοντα επιμήκυνσης EF-G. Ο παράγοντας επιμήκυνσης EF-G, με τη βοήθεια της ενέργειας που απελευθερώνεται από την υδρόλυση 1 μορίου φισυμβάλει στην μετατόπιση του mRNA στο ριβόσωμα κατά ένα κωδικόνιο. Παρουσία φουσιδικού

οξέος, όμως, ο παράγοντας EF-G, «παγώνει» στη θέση του στο ριβόσωμα και έτσι αναστέλλεται η πρωτεϊνική σύνθεση. (Clarketal., 2019).

2.3.3 Αναστολή της διαδικασίας σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων

Τα αντιβιοτικά στοχεύουν σε όλα τα σημεία όπου το βακτήριο μπορεί να δείχνει αδυναμία. Ένα από αυτά τα ευάλωτα σημεία για το βακτήριο είναι το γονιδίωμά του. Τα αντιβιοτικά, λοιπόν, παρεμβαίνουν στα διάφορα στάδια σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων παρεμποδίζοντας ή αλλοιώνοντας τη διαδικασία της αντιγραφής ή μεταγραφής και οδηγώντας έτσι το βακτήριο σε καταστροφή (Naveedetal., 2020).

Οι τοποϊσομεράσες είναι ένζυμα που κωδικοποιούνται από το κύτταρο με σκοπό να βοηθήσουν το DNA να διατηρήσει το κατάλληλο επίπεδο υποστροφής και να αντιμετωπίσει τυχόν προβλήματα περιέλιξης που μπορούν να δημιουργηθούν. Οι τοποϊσομεράσες για να πετύχουν τον στόχο τους δημιουργούν παρωδικά διαλείμματα (ανοίγματα) στα μόρια DNA. Υπάρχουν δύο κατηγορίες τοποϊσομερασών, οι οποίες διακρίνονται από τον αριθμό των κλώνων του DNA που διασπώνται (Gentry&Osheroﬀ, 2013):

- τοποϊσομεράσες τύπου I, οι οποίες δημιουργούν ένα παρωδικό μονόκλωνο άνοιγμα στο γενετικό υλικό. Με τα ανοίγματα αυτά διευκολύνεται η ελεγχόμενη περιστροφή της διπλής έλικας.
- τοποϊσομεράσες τύπου II, οι οποίες δρουν δημιουργώντας ένα παρωδικό διζωνικό διάλειμμα (άνοιγμα) μέσω του οποίου μπορεί να διέλθει άθικτη, ξεχωριστή έλικα. Ανοίγοντας και τα δύο σκέλη της αλυσίδας DNA, μπορούν να βοηθήσουν στην επίλυση κόμπων ή μπερδεμάτων, που τυχόν έχουν δημιουργηθεί στην γενετική αλυσίδα. Αυτά τα ένζυμα, και κυρίως η τοποϊσομεράση IV και η DNAγυράση, αποτελούν τον στόχο πολλών αντιβακτηριακών φαρμάκων.

Τα αντιβιοτικά φάρμακα που στοχεύουν στις τοποϊσομεράσες τύπου II δεν δρουν παρεμποδίζοντας τη δράση τους στο κύτταρο. Αντιθέτως, τα αντιβιοτικά αυτής της κατηγορίας στο σύνολό τους στοχεύουν στην υπέρμετρη αύξηση της δραστηριότητας των τοποϊσομερασών. Με τον τρόπο αυτό δημιουργούνται πολλά ομοιοπολικά συμπλέγματα διάσπασης ενζύμου- DNA. Το δυνητικό θανατηφόρο σύμπλοκο διάσπασης αυξάνεται ουσιαστικά όταν τα ένζυμα παρακολούθησης DNA, όπως οι πολυμεράσες ή οι ελίκες, προσπαθούν να διασχίσουν το ομοιοπολικώς

δεσμευμένο οδοφράγμα στο γενετικό υλικό. Μία τέτοια δράση διαταράσσει τα σύμπλοκα διάσπασης και μετατρέπει παροδικά διαλείμματα DNA που προκαλούνται από ένζυμα σε μόνιμα. Αυτά τα μόνιμα διαλείμματα στο γονιδίωμα πυροδοτούν τη δημιουργία χρωμοσωμικών εισαγωγών, διαγραφών, μετατοπίσεων και άλλων μεταλλάξεων και, όταν υπάρχουν σε επαρκή αριθμό, ξεκινούν μια σειρά γεγονότων που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο (Gentry&Osheroff, 2013).

Η γυράση DNA και η τοποϊσομεράση IV είναι οι κύριοι στόχοι για αντιβακτηριακούς παράγοντες με βάση την κινολόνη. Τα αντιβιοτικά όπως οι φθοροκινολόνες (FQs) εμποδίζουν τη δραστηριότητα του ενζύμου της βακτηριακής γυράσης του DNA, σε Gram (-) αρνητικά βακτήρια. Η τοποϊσομεράση IV ωστόσο φαίνεται να είναι ο πιο σημαντικός στόχος στα περισσότερα Gram (+) βακτήρια (Naveedetal., 2020).

2.3.4 Αλλοίωση της λειτουργίας της κυτταρικής μεμβράνης

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη του κυττάρου είναι μία φωσφολιπιδική διπλή στιβάδα, που λειτουργεί ως φράγμα ανάμεσα στο κύτταρο και το περιβάλλον του και εξασφαλίζει την ακεραιότητα του βακτηρίου. Ωστόσο, υπάρχουν μόρια, αρκετά πολικά, που διέρχονται μέσα από αυτή την μεμβράνη όπως είναι πολλά ιόντα, σάκχαρα ή αμινοξέα. Η μεταφορά των πολικών μορίων γίνεται με τη βοήθεια εξειδικευμένων πρωτεϊνών μεταφοράς που είναι γνωστές ως πορίνες, δίαυλοι ή περμεάσες. Αυτά τα μόρια βρίσκονται συνήθως στο περίπλασμα. Το περίπλασμα Gram (-) αρνητικά βακτήρια είναι ο χώρος μεταξύ των δύο κυτταρικών μεμβρανών, της εσωτερικής και της εξωτερικής. Το περίπλασμα θεωρείται ότι υφίσταται σε κατάσταση πηκτής, παρά ότι μοιάζει σαν υγρό, λόγω του συμπυκνωμένου περιβάλλοντος της πεπτιδογλυκάνης και των πρωτεϊνών που υπάρχουν σε αυτό (Naveedetal., 2020).

Ορισμένα αντιβιοτικά φάρμακα καταστρέφουν τη λειτουργικότητα της μεμβράνης. Για παράδειγμα, στην κυτταρική επιφάνεια του βακτηρίου προσδένονται για παράδειγμα πάνω σε υποδοχείς ορισμένα εξωκυττάρια σηματοδοτικά μόρια. Αν η βιοχημική οδός σηματοδότησης του βακτηρίου, καταστραφεί από τα αντιβιοτικά, τότε αλλάζει η ακεραιότητα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Η αλλαγή στη μεμβράνη προκαλεί σοβαρή δομική βλάβη και οδηγεί στη θανάτωση των βακτηριακών κυττάρων από το σώμα (Naveedetal., 2020).

Σε ορισμένες άλλες περιπτώσεις, όπως στην περίπτωση της πολυμυξίνης, το αντιβιοτικό αλληλεπιδρά με τα μόρια των λιποσακχαριτών της εξωτερικής μεμβράνης των Gram (-) βακτηρίων, με αποτέλεσμα η διαπερατότητα της μεμβράνης να αλλάξει και το βακτηριακό κύτταρο να θανατώνεται (Naveedetal., 2020).

2.3.5 Αναστολή ορισμένων μεταβολικών διαδικασιών

Ορισμένα αντιβιοτικά δρουν ως αντιμεταβολίτες, δηλαδή είναι χημικές ουσίες που παρεμβαίνουν στις μεταβολικές οδούς των βακτηριακών κυττάρων, προκαλώντας έτσι τη θανάτωσή τους. Αυτοί οι αντιμεταβολίτες ενώ διαταράσσουν τις μεταβολικές οδούς των βακτηρίων, δεν επιδρούν στα ανθρώπινα κύτταρα. Οι περισσότεροι ασχολούνται με την αναστολή της σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων. Μερικοί άλλοι παρεμβαίνουν στη διαδικασία παραγωγής φυλλικού οξέος (Naveedetal., 2020).

Αρκετές μικροβιακές λοιμώξεις, όχι μόνο βακτηριακές αλλά και ορισμένες που οφείλονται σε πρωτόζωα, παρουσιάζουν επιταχυνόμενο μεταβολικό ρυθμό μετά την είσοδο στον οργανισμό. Προκειμένου να διασφαλιστεί η σωστή λειτουργία της αντιγραφής των κυττάρων και των διαδικασιών σύνθεσης πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων, σε αυτές τις περιπτώσεις αυξάνεται επίσης και ο ρυθμός μεταβολισμού του φυλλικού οξέος. Για το λόγο αυτό, οι ανταγωνιστές του φυλλικού οξέος έχουν χρησιμοποιηθεί από την ανακάλυψή τους για τη θεραπεία διαφόρων ειδών μικροβιακών λοιμώξεων, εκμεταλλευόμενοι αυτή τη μεταβολική διαφορά σε σύγκριση με τα ανθρώπινα κύτταρα (Fernandez-Villaetal., 2019).

Το φυλλικό οξύ αποτελεί μεταβολίτη το οποίο ανήκει στην οικογένεια των βιταμινών B και είναι απαραίτητο για να διασφαλίσει τη σωστή λειτουργία ενός ζωντανού οργανισμού. Λαμβάνει μέρος σε πολυάριθμες αντιδράσεις, οι οποίες σχετίζονται με διάφορες βιοσυνθετικές οδούς που επιτρέπουν τη σωστή σύνθεση πρωτεϊνών και νουκλεϊκών οξέων σε διάφορους οργανισμούς. Συμμετέχει στις αντιδράσεις σύνθεσης ορισμένων αμινοξέων όπως μεθειονίνη, σερίνη, γλυκίνη, ιστιδίνη ή γλουταμικό και στη διαμόρφωση tRNA. Εμπλέκεται επίσης στη σύνθεση αζωτούχων βάσεων πουρίνης και πυριμιδίνης και ρυθμίζει επιγενετικά την γονιδιακή έκφραση μέσω των αντιδράσεων μεταφοράς άνθρακα που αναφέρθηκαν (Fernandez-Villaetal., 2019).

Ο μηχανισμός δράσης των αντιφολικών φαρμάκων εξαρτάται από το ένζυμο στο οποίο ενεργούν, τα οποία μπορούν να συμβάλλουν στον μεταβολισμό του φυλλικού οξέος ή στη χρήση του. Ουσιαστικά, πρόκειται για ουσίες που ομοιάζουν με τους φυσιολογικούς μεταβολίτες, ενσωματώνονται στο υλικό του πυρήνα ή δρουν ανταγωνιστικά με τα διάφορα ένζυμα που είναι απαραίτητα για τη συγκεκριμένη μεταβολική διαδικασία και έτσι εμποδίζουν την ορθή κυτταρική λειτουργία και διαίρεση. Παραδείγματα αντιφολικών φαρμάκων είναι η μεθοτρεξάτη και η πεμετρεξέδη (Fernandez-Villaetal., 2019).

Κεφάλαιο 3: Μηχανισμοί ανθεκτικότητας μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά

3.1 Εισαγωγικά στοιχεία

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται παγκόσμια τόσο στην ιατρική όσο και στην κτηνοτροφία. Όπως αναφέρθηκε, είναι φάρμακα που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία μολυσματικών ασθενειών που παλαιότερα ευθύνονταν για τη θνησιμότητα αρκετά μεγάλου αριθμού ατόμων. (Naveedetal., 2020).

Ωστόσο, η αλόγιστη χρήση τους σταδιακά έχει οδηγήσει στην εμφάνιση διαφόρων στελεχών βακτηρίων ανθεκτικά σε ένα ευρύ φάσμα αντιβιοτικών, προκαλώντας ανησυχίες στην παγκόσμια κοινότητα. Η αντίσταση στα αντιβιοτικά, η ανθεκτικότητα δηλαδή που παρουσιάζουν τα βακτήρια στις περιπτώσεις αυτές, είναι συχνά υπεύθυνη για την παρατεταμένη διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο, για την επιμονή των συμπτωμάτων, για την ανάγκη για ακριβότερη ιατρική περίθαλψη και μερικές φορές ακόμη και για το θάνατο των ασθενών (Naveedetal., 2020).

Ένα βασικό αίτιο που οδήγησε στην επιδείνωση του προβλήματος της ανάπτυξης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, είναι η αυτοθεραπεία και η αυτοδιάγνωση, δηλαδή η πρόσληψη φαρμάκων για τη θεραπεία διαταραχών που αυτοδιαγιγνώσκονται χωρίς πρώτα να έχει ο ασθενής να έχει συμβουλευτεί γιατρό. Έχει υπολογισθεί ότι σχεδόν η μισή ποσότητα των αντιβιοτικών ουσιών που καταναλώνονται, από ανθρώπους και ζώα, δεν έχουν συνταγογραφηθεί από γιατρό ή κτηνίατρο. Συχνά, στην περίπτωση των ανθρώπων χρησιμοποιούνται αυτοθεραπευτικά, ενώ στην περίπτωση των ζώων στηρίζονται σε προηγούμενες εμπειρίες ή/και συναφή βιώματα συναδέλφων. Αυτή η πρακτική είναι κοινή ιδιαίτερα σε οικονομικά αναπτυσσόμενες κοινωνίες, όπου υπάρχει φτώχεια, ανεπαρκείς εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης και έλλειψη ιατρικής εμπειρογγνωμοσύνης(Naveedetal., 2020).

3.2 Ιστορική εξέλιξη της ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά

Οι πρώτες ανησυχίες για την ανάπτυξη της αντοχής των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά εμφανίστηκαν μετά το τέλος του Β΄ Παγκόσμιου Πολέμου. Θα μπορούσαν να διακριθούν τέσσερις χρονικές περιόδους, όπου η μικροβιακή ανθεκτικότητα έχει προσελκύσει την κοινή γνώμη και έχει προκαλέσει διαφορετικό βαθμό ανησυχίας και αντίδρασης:

1. **1945-1963:** Είναι μία περίοδος όπου η φαρμακευτική βιομηχανία εντοπίζει το πρόβλημα της μικροβιακής αντοχής αλλά, αισιοδοξεί, καθώς καταφέρνει να συμβαδίσει με τις εξελίξεις. Στα τέλη της δεκαετίας του 1940, το βακτήριο *Staphylococcus aureus* διαπιστώνεται ότι είναι ανθεκτικό στα αντιβιοτικά και κατά τη δεκαετία του 1950 εμπλέκεται στην ανάπτυξη πολλών νοσοκομειακών λοιμώξεων και θανάτων παγκοσμίως. Το 1959, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) σχημάτισε μία ομάδα εμπειρογνομόνων με σκοπό να διερευνήσει τα αντιβιοτικά και την αντίσταση σε αυτά. Ωστόσο, σε αυτό το στάδιο, απέφυγε να αναλάβει πρωτοβουλία και να προωθήσει διεθνείς κινήσεις που να σχετίζονται με την ενημέρωση, την επιτήρηση και την κατάλληλη χρήση των αντιβιοτικών. Είναι μία περίοδος όπου επικρατεί εφησυχασμός καθώς η φαρμακευτική βιομηχανία εισάγει συνεχώς νέα αντιμικροβιακά φάρμακα στην αγορά και πιστεύεται ότι ακόμη και αν δημιουργηθούν προβλήματα αντίστασης των μικροοργανισμών έναντι ενός αντιβιοτικού, θα μπορούσε να αντικατασταθεί από ένα νέο (Podolsky, 2018).
2. **1963-1981:** Κατά την περίοδο αυτή, η επιστημονική κοινότητα ανακαλύπτει ότι είναι δυνατή η μετάδοση της αντίστασης στα αντιβιοτικά μέσω πλασμιδίων. Επικρατεί αυξανόμενη ανησυχία, αλλά δεν λαμβάνονται μέτρα πρόληψης. Στις αρχές της δεκαετίας του 1960, γίνεται γνωστό ότι η βακτηριακή αντίσταση εκτός ότι μπορεί να μεταδοθεί μέσω γονιδίων στα απόγονα βακτήρια, μπορεί να μεταδοθεί και μεταξύ στελεχών ή ακόμη και ειδών με τη βοήθεια κινητών γενετικών στοιχείων που ονομάστηκαν πλασμίδια. Αυτή η διαπίστωση διέγειρε προβληματισμούς και ανησυχίες, όπως για παράδειγμα η δυνατότητα μετάδοσης ανθεκτικών βακτηρίων από τα ζώα στον άνθρωπο ή η εμφάνιση ενός «superbug», δηλαδή ενός «υπερβακτηρίου», το οποίο θα είναι άτρωτο

στα φάρμακα και άρα μη αντιμετωπίσιμο. Αρχικά στη Μεγάλη Βρετανία και μετά σε άλλα ευρωπαϊκά κράτη απαγορεύτηκε η χρήση ορισμένων αντιβιοτικών, όπως η πενικιλίνη και οι τετρακυκλίνες, για την προώθηση της ανάπτυξης των ζώων. Στις Ηνωμένες Πολιτείες όμως, δεν έγιναν αποδεκτές οι ίδιες συστάσεις. Ο φόβος για το οικονομικό αντίκτυπο που θα είχε η απαγόρευση της χρήσης των αντιβιοτικών στις αγροτικές επιχειρήσεις σε συνδυασμό με την επιστημονική αβεβαιότητα των αντιβιοτικών με την ανάπτυξη της αντίστασης των μικροοργανισμών, φάνηκαν αρκετά ισχυροί (Podolsky, 2018).

3. **1981-1992:** η αντίσταση των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά αναγνωρίζεται ως παγκόσμιο πρόβλημα και ακούγονται οι πρώτες φωνές για την μεγαλύτερη ευαισθητοποίηση της παγκόσμιας κοινότητας. Τον Ιανουάριο του 1981, ο Stuart Levy (1938-2019) συγκάλεσε ένα συνέδριο στον Santo Domingo με θέμα «Molecular Biology, Pathogenicity, and Ecology of Bacterial Plasmids» («Μοριακή Βιολογία, Παθογένεια και Οικολογία Πλασμιδίων των Βακτηρίων»), όπου 147 επιστήμονες από 27 διαφορετικές χώρες υπέγραψαν δήλωση συνεργασίας για το παγκόσμιο πρόβλημα που προκαλείται από την αντίσταση στα αντιβιοτικά. Με αρχή αυτή την κοινή δήλωση των επιστημόνων, ο Levy ίδρυσε τη Συμμαχία Για Τη Συνετή Χρήση Αντιβιοτικών (Alliance for the Prudent Use of Antibiotics - APUA), με στόχο να προωθήσει τον ορθό τρόπο της χρήσης αντιβιοτικών και να περιορίσει την αντοχή στα αντιβιοτικά (Podolsky, 2018).
4. **1992-2013:** Είναι η περίοδος όπου η αντίσταση των μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά προκάλεσε μεγαλύτερες ανησυχίες από ότι στον παρελθόν. Η πιθανότητα εμφάνισης νέων λοιμώξεων από στελέχη μικροοργανισμών ανθεκτικά στα σύγχρονα αντιβιοτικά, προκαλεί τη συλλογική προσοχή. Την περίοδο αυτή γίνονται σημαντικές κινήσεις ότι να αναχαιτιστεί η εξάπλωση της μικροβιακής αντίστασης. Το 2001, δημιουργήθηκε το Ευρωπαϊκό Σύστημα Επιτήρησης της Μικροβιακής Αντοχής (EARSS) και ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) κυκλοφορεί το «Παγκόσμια Στρατηγική για τον Περιορισμό της Αντιμικροβιακής Αντίστασης», όπου σημειώνονται οι άμεσες και έμμεσες επιδράσεις της αντίστασης στα αντιβιοτικά στην ανθρώπινη υγεία, στην παγκόσμια οικονομία και στην διεθνή ασφάλεια. Αρκετές ευρωπαϊκές χώρες αναλαμβάνουν να κάνουν κινήσεις για να ενημερώσουν τους πολίτες για τις συνέπειες της αλόγιστης χρήσης των αντιβιοτικών και για την ανάγκη ιατρικής ή κτηνιατρικής γνωμάτευσης, ενώ θα λάβουν νομοθετικά μέτρα για τον

περιορισμό της διάθεσης τους στην αγροτοβιομηχανία και την ιατρική. Επίσης, εισάγεται η προσέγγιση «OneHealth» στη χρήση αντιβιοτικών, όπου περιλαμβάνει το τρίπτυχο: άνθρωπος-ζώα-περιβάλλον.

5. **2013-σήμερα:** Η μικροβιακή αντίσταση στα αντιβιοτικά ανάγεται σε πρόβλημα παγκόσμιας έκτασης και άμεσης προτεραιότητας. Οι προσπάθειες για την καταπολέμηση των ανθεκτικών μικροοργανισμών συνεχίζεται και λαμβάνει ένα πιο παγκόσμιο χαρακτήρα, απαιτώντας τη διεθνή συνεργασία και χρηματοδότηση.

Η ανθεκτικότητα των βακτηρίων στη χρήση αντιβιοτικών ακολουθεί αυξητική πορεία. Το 2013, σε μια έκθεση που κυκλοφόρησε από τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ (CentersforDiseaseControlandPrevention -CDC) γινόταν αναφορά ότι 23.000 άνθρωποι στις Ηνωμένες Πολιτείες έχασαν τη ζωή τους εξαιτίας της ανάπτυξης μηχανισμών αντίστασης των βακτηρίων στα αντιβιοτικά. Σε μία δεύτερη έκθεση, το 2019, αναφέρεται ότι 2,8 εκατομμύρια λοιμώξεις και 35.000 θάνατοι ετησίως στις Ηνωμένες Πολιτείες οφείλονται στην ανοχή των βακτηρίων και των μυκήτων στα αντιβιοτικά. Αυτό σημαίνει ότι κατά μέσο όρο κάθε 11 δευτερόλεπτα κάποιος μολύνεται με ένα ανθεκτικό στα αντιβιοτικά στέλεχος παθογόνου μικροοργανισμού και κάθε 15 λεπτά κάποιος χάνει τη ζωή του. Αν στα δεδομένα αυτά προστεθεί και το *Clostridioidesdifficile* βακτήριο που δεν είναι τυπικά ανθεκτικό αλλά μπορεί να προκαλέσει θανατηφόρο διάρροια και σχετίζεται με τη χρήση αντιβιοτικών, προστίθεται σε αυτά, ο απολογισμός των ΗΠΑ όλων των απειλών στην έκθεση υπερβαίνει τα 3 εκατομμύρια λοιμώξεις και 48.000 θανάτους (CDC, 2019).

Τα Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των ΗΠΑ εκφράζουν την ανησυχία τους για ορισμένες ανθεκτικές στα αντιβιοτικά λοιμώξεις που δείχνουν να αυξάνονται στην κοινότητα (CDC, 2019):

- Ανθεκτικά στα φάρμακα *Neisseriagonorrhoeae*: Ετησίως παρουσιάζονται περισσότερες από μισό εκατομμύριο ανθεκτικές λοιμώξεις γονόρροιας, αριθμός διπλάσιος από αυτόν που αναφέρθηκε το 2013. Τα βακτήρια που προκαλούν γονόρροια έχουν αναπτύξει ανοχή σε όλα τα αντιβιοτικά εκτός από μία κατηγορία, και οι μισές από όλες τις λοιμώξεις είναι ανθεκτικές σε τουλάχιστον ένα αντιβιοτικό. Αυτές οι λοιμώξεις συμβάλλουν σε σημαντικά

αρνητικά αποτελέσματα για την αναπαραγωγική υγεία, όπως η στειρότητα στις γυναίκες και σε νέες λοιμώξεις από τον ιό HIV ειδικά στους άνδρες.

- *Enterobacteriaceae* που παράγει βήτα-λακταμάση εκτεταμένου φάσματος (ESBL)-Πρόκειται για μία από τις κύριες αιτίες θανάτου από ανθεκτικά μικρόβια. Κάνουν δυσκολότερη τη θεραπεία των λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος, ειδικά στις γυναίκες, και είναι ικανά να αναιρέσουν την πρόοδο που έχει σημειωθεί στα νοσοκομεία, εάν τους επιτραπεί να εξαπλωθούν εκεί.
- Στρεπτόκοκκος ομάδας A ανθεκτικός στην ερυθρομυκίνη-Οι διηθητικές λοιμώξεις από αυτά τα μικρόβια έχουν τετραπλασιαστεί από την έκθεση του 2013. Εάν η αντίσταση συνεχίσει να αυξάνεται, οι μολύνσεις και οι θάνατοι μπορεί να αυξηθούν

3.3 Γενετική βάση της αντιμικροβιακής αντίστασης

Τα βακτήρια παρουσιάζουν γενετική προσαρμοστικότητα και πλαστικότητα σε αξιοσημείωτο βαθμό. Όταν βρίσκονται σε ένα δυσμενές ή απειλητικό για την ύπαρξή τους οικολογικό περιβάλλον, όπως είναι η παρουσία μορίων αντιβιοτικών, αντιδρούν και αναπτύσσουν μηχανισμούς άμυνας. Αρκετοί από αυτούς τους μηχανισμούς έχουν τις ρίζες τους στο μακρινό παρελθόν. Σκοπός τους είναι να εξασφαλίσουν ότι θα επιβιώσουν και θα ευδοκιμήσουν, ανεξάρτητα από την παρουσία των αντιβιοτικών στον περιβάλλοντα χώρο. Από εξελικτική σκοπιά, τα βακτήρια έχουν αναπτύξει δύο κύριες γενετικές στρατηγικές (Munita&Arias, 2021):

i) μετάλλαξη γονιδίων, τα οποία γονίδια είναι σχετικά με τον μηχανισμό δράσης των αντιμικροβιακών ουσιών, και

ii) απόκτηση ξένου DNA, το οποίο καταφέρνει να κωδικοποιήσει ορισμένους καθοριστικούς παράγοντες αντίστασης κυρίως μέσω οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς (HorizontalGeneTransfer -HGT)

3.3.1 Μετάλλαξη του γενετικού υλικού των παθογόνων μικροοργανισμών

Ένας από τους παράγοντες που οδηγούν στην ανάπτυξη της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι η μετάλλαξη του γενετικού υλικού των παθογόνων μικροοργανισμών. Για πρώτη φορά ο όρος *φυσική επιλογή* εισήχθη από τον Κάρολο

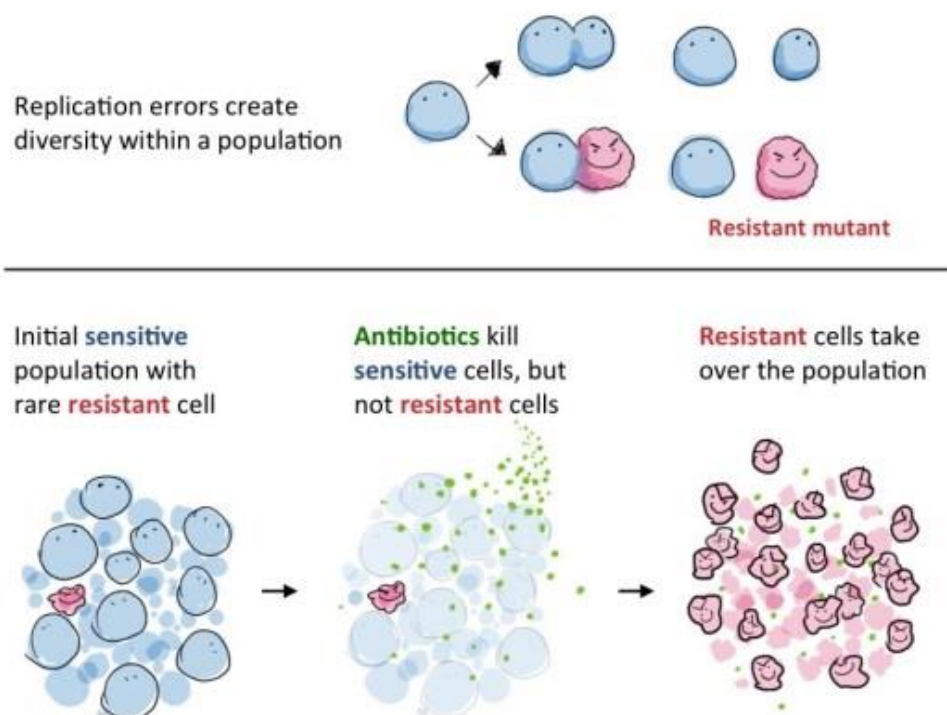
Δαρβίνο. Αναφέρεται στην επίδραση των περιβαλλοντικών συνθηκών στην εξέλιξη των ζωντανών οργανισμών, άρα και των μικροοργανισμών. Σύμφωνα με τις σύγχρονες εξελικτικές ιδέες, η διαδικασία της φυσικής επιλογής επεκτείνεται στο γονιδίωμα του οργανισμού. Είναι αποδεκτό, ότι συντελούνται παραλλαγές-αλλοιώσεις στο γενετικό υλικό των οργανισμών, οι οποίες ονομάζονται μεταλλάξεις. Ο ρυθμός των μεταλλάξεων κυμαίνεται από 1 στα 10^9 έως 1 στα 10^{10} . Οι μεταλλάξεις αυτές στο σύνολό τους δεν αποτελούν απόκριση του οργανισμού στις περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά συνήθως είναι τυχαίες και μπορούν είτε να έχουν είτε να μην έχουν κάποια επίδραση στην αύξηση της ικανότητας ή πιθανότητας επιβίωσης του οργανισμού. Ωστόσο, με την διέλευση του χρόνου, πραγματοποιείται η επιλογή και η επιβίωση των γενετικών παραλλαγών των ειδών τα οποία παρουσιάζουν τα βέλτιστα χαρακτηριστικά για το συγκεκριμένο περιβάλλον (Naveedetal., 2020).

Ένα σύνολο βακτηριακών κυττάρων που προέρχονται από έναν ευαίσθητο πληθυσμό εμφανίζουν μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με την δράση και την δραστηριότητα του αντιμικροβιακού φαρμάκου. Στόχος των μεταλλάξεων είναι η επιβίωση των βακτηρίων παρουσία του συγκεκριμένου αντιμικροβιακού παράγοντα. Μόλις εμφανιστεί μία ανθεκτική μετάλλαξη, το αντιβιοτικό εξαλείφει τον ευαίσθητο πληθυσμό και τα ανθεκτικά μεταλλαγμένα βακτήρια κυριαρχούν (Munita&Arias, 2021).

Πρόκειται για μία γενετική μεταβολή η οποία θα περάσει από τα αρχικά μητρικά κύτταρα, μέσω του βακτηριακού πολλαπλασιασμού, στους απογόνους. Σε πολλές περιπτώσεις, οι αλλαγές του γενετικού υλικού που αποσκοπούν σε αντίσταση του κυττάρου είναι ενεργειακά δαπανηρές για την ομοιόσταση των κυττάρων, δηλαδή μειώνουν την ικανότητα του κυττάρου να διατηρήσει σταθερό εσωτερικό περιβάλλον. Σε αυτήν την περίπτωση, μπορούν να διατηρηθούν στο γενετικό υλικό των απογόνων σε μία λανθάνουσα κατάσταση και να ενεργοποιούνται, δηλαδή να εκφράζονται γενετικά, μόνο παρουσία του αντιβιοτικού (Munita&Arias, 2021).

Με γονιδιακές παραλλαγές, ορισμένα είδη βακτηρίων όπως τα μυκοβακτηρίδια αναπτύσσουν αντοχή στα φάρμακα. Για την πρόβλεψη μοριακών διεργασιών που είναι υπεύθυνες για την αντοχή στα αντιβιοτικά του *Mycobacteriumsmegmatis*, παρασκευάστηκαν διάφορες καλλιέργειες (Gomezetal., 2017). Ο *M. smegmatis* ανήκει στην οικογένεια του είδους που προκάλεσε φυματίωση. Τα βακτήρια, όταν εκτέθηκαν στη χαμηλή συγκέντρωση αντιβιοτικών, παρατήρησαν μικρότερη

επίδραση μικροβίων που σκοτώνουν σχετικά χαμηλά. Έτσι, αυτό είναι χρήσιμο για την παρακολούθηση των ευαίσθητων βακτηρίων που σκοτώνονται από την έκθεση σε αντιβιοτικά μαζί με την απομόνωση των κυττάρων στα οποία προβλέπονται μεταλλάγματα. Η ανάπτυξη των μεταλλαγμάτων ανθεκτικών στα αντιβιοτικά σε αρκετές καλλιέργειες αποκάλυψε ότι μια μεμονωμένη μετάλλαξη μεταφέρθηκε από κάθε άτομο σε πολλά διαμερίσματα ριβοσώματος. Τα ριβοσώματα είναι μοριακές μηχανές πολύπλοκης φύσης που οδηγούν στο σχηματισμό πρωτεϊνών. Οι ριβοσωμικές μεταλλάξεις καταλήγουν σε αντίσταση σε διάφορες κατηγορίες αντιβιοτικών που δεν έχουν μόνο επιδράσεις στα ριβοσώματα αλλά και στα μεταλλαγμένα που εκκρίνονται. Είναι επίσης υπεύθυνη για την αύξηση της αντοχής στις καταπονήσεις που δεν είναι αντιβιοτικά, ιδιαίτερα το στρες της μεμβράνης και το θερμικό σοκ. Λόγω μεταλλάξεων, η ικανότητα του *M. smegmatis* αυξήθηκε έναντι πολλών φαρμάκων. Οι μεταλλάξεις καθιστούν τα βακτηριακά στελέχη λιγότερο ευαίσθητα στα αντιβιοτικά καθώς και στα μη αντιβιοτικά στρες. Η κατανόηση των φαινομένων αντίστασης στα αντιβιοτικά είναι χρήσιμη για την ανάπτυξη και τη βελτιστοποίηση νέων φαρμάκων για τη θεραπεία βακτηριακών λοιμώξεων (Gomezetal., 2017).



Εικόνα4: Επικράτηση ανθεκτικού μεταλλαγμένου βακτηριακού κυττάρου

Πηγή: <https://sitn.hms.harvard.edu/flash/2016/antibiotic-resistance-old-genes-new-problems/>

3.3.2 Οριζόντια μεταφορά γενετικού υλικού

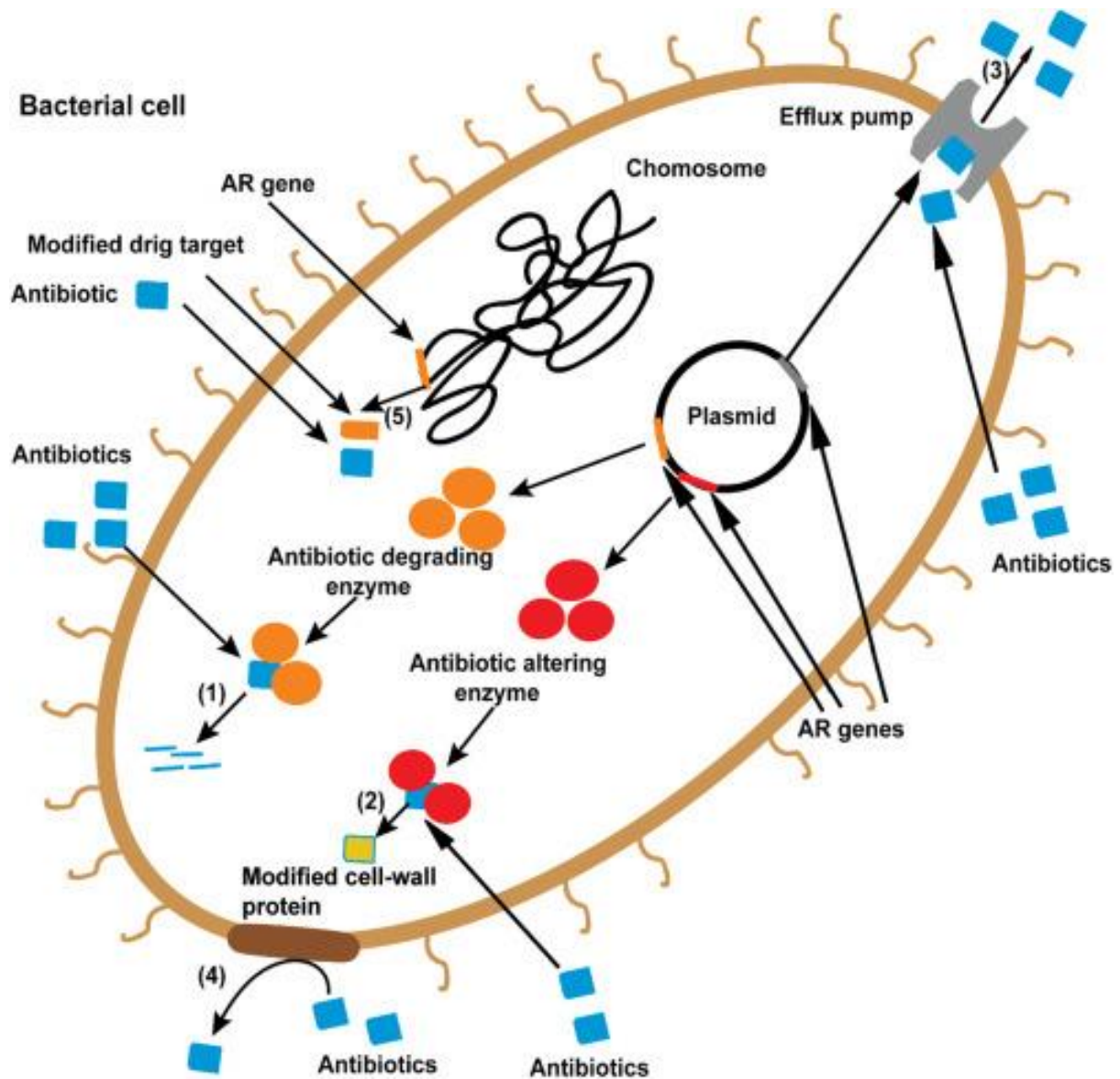
Η απόκτηση ξένου υλικού DNA μέσω οριζόντιας μεταφοράς (Horizontal Gene Transfer – HGT) είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες ανάπτυξης βακτηρίων και είναι συχνά υπεύθυνος για την ανάπτυξη αντιμικροβιακής αντοχής. Οι περισσότεροι αντιμικροβιακοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη είναι (ή προέρχονται από) προϊόντα που βρίσκονται φυσικά στο περιβάλλον, κυρίως από το έδαφος. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα βακτήρια που μοιράζονται το περιβάλλον με αυτά τα μόρια διαθέτουν εγγενείς γενετικούς καθοριστικούς παράγοντες αντίστασης και υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις που υποδηλώνουν ότι μια τέτοια «περιβαλλοντική αντίσταση» είναι μια πλούσια πηγή για την απόκτηση γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά σε κλινικά σχετικά βακτήρια. Επιπλέον, αυτή η γενετική ανταλλαγή έχει εμπλακεί στη διάδοση της αντίστασης σε πολλά συχνά χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά (Munita & Arias, 2021)..

Κλασικά, τα βακτήρια αποκτούν εξωτερικό γενετικό υλικό μέσω τριών βασικών διαδικασιών:

- i) μετασχηματισμού (ενσωμάτωση γυμνού DNA),
- ii) μεταφοράς (μεσολάβηση φάγου)
- iii) σύζευξης (βακτηριακό «φύλο»). Ο μετασχηματισμός είναι ίσως ο απλούστερος τύπος οριζόντιας μεταφοράς γονιδίων, αλλά μόνο ένας περιορισμένος αριθμός κλινικά σχετικών βακτηριακών ειδών είναι σε θέση να ενσωματώσουν "φυσικά" σε γυμνό DNA για να αναπτύξουν αντίσταση. Η εμφάνιση αντοχής στο νοσοκομειακό περιβάλλον περιλαμβάνει συχνά τη σύζευξη, μια πολύ αποτελεσματική μέθοδο μεταφοράς γονιδίου που περιλαμβάνει επαφή κυττάρου με κύτταρο και είναι πιθανό να συμβεί σε υψηλούς ρυθμούς στο γαστρεντερικό σωλήνα των ανθρώπων υπό θεραπεία με αντιβιοτικά. Κατά γενικό κανόνα, η σύζευξη χρησιμοποιεί κινητά γενετικά στοιχεία (Mobile genetic elements - MGEs) ως οχήματα για την ανταλλαγή πολύτιμων γενετικών πληροφοριών, αν και η άμεση μεταφορά από το χρωμόσωμα στο χρωμόσωμα έχει επίσης χαρακτηριστεί καλά. Τα πιο σημαντικά κινητά γενετικά στοιχεία είναι τα πλασμίδια και τα τρανσποσόνια, και τα

δύο παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη διάδοση της αντιμικροβιακής αντοχής μεταξύ των κλινικά σχετικών οργανισμών(Munita&Arias, 2021).

Τέλος, ένας από τους πιο αποτελεσματικούς μηχανισμούς για τη συσσώρευση αντιμικροβιακών ανθεκτικών γονιδίων αντιπροσωπεύεται από ιντεγκρόνια, τα οποία είναι ειδικά για τη θέση συστήματα ανασυνδυασμού του γενετικού υλικού και είναι ικανά να στρατολογήσουν ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης με τη μορφή κινητών κασετών γονιδίων. Τα ιντεγκρόνια παρέχουν έναν αποτελεσματικό και μάλλον απλό μηχανισμό για την προσθήκη νέων γονιδίων σε βακτηριακά χρωμοσώματα, μαζί με τον απαραίτητο μηχανισμό για την εξασφάλιση της έκφρασης τους. μια ισχυρή στρατηγική γενετικής ανταλλαγής και ένας από τους κύριους παράγοντες ανάπτυξης βακτηρίων(Munita&Arias, 2021).



Εικόνα5: Συνοπτικά ορισμένοι μηχανισμοί ανάπτυξης ανθεκτικότητας των βακτηρίων έναντι των αντιβιοτικών

Πηγή:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128184806000023>

3.4 Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα βακτήρια έχουν αναπτύξει εξελιγμένους μηχανισμούς αντοχής στα φάρμακα για να αποφύγουν τη θανάτωση από αντιμικροβιακά μόρια, μια διαδικασία που πιθανότατα έχει συμβεί κατά τη διάρκεια εκατομμυρίων ετών εξέλιξης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αντίσταση σε μία κατηγορία αντιμικροβιακών μπορεί συνήθως να επιτευχθεί μέσω πολλαπλών βιοχημικών οδών και ένα βακτηριακό κύτταρο μπορεί να είναι σε θέση να χρησιμοποιήσει ένα σύνολο μηχανισμών αντίστασης για να επιβιώσει από την επίδραση ενός αντιβιοτικού (Munita&Arias, 2021).

Για παράδειγμα, η αντίσταση στη φθοροκινολόνη (FQ) μπορεί να εμφανιστεί λόγω τριών διαφορετικών βιοχημικών οδών, όλες οι οποίες μπορεί να συνυπάρχουν στα ίδια βακτήρια σε δεδομένη χρονική στιγμή (παράγοντας πρόσθετο αποτέλεσμα και, συχνά, αύξηση των επιπέδων αντίστασης), i) μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν τη θέση στόχου των FQs (γυράση DNA και τοποϊσομεράση IV), ii) υπερ-έκφραση αντλιών εκροής που εξωθούν το φάρμακο από το κύτταρο, και iii) προστασία της θέσης στόχου FQ από μια πρωτεΐνη που ορίζεται Qnr

Από την άλλη πλευρά, τα βακτηριακά είδη φαίνεται να έχουν αναπτύξει μια προτίμηση για κάποιους μηχανισμούς αντίστασης έναντι άλλων. Για παράδειγμα, ο κυρίαρχος μηχανισμός αντοχής στις β-λακτάμες σε gram-αρνητικά βακτήρια είναι η παραγωγή β-λακταμασών, ενώ η αντίσταση σε αυτές τις ενώσεις σε gram-θετικούς οργανισμούς επιτυγχάνεται κυρίως με τροποποιήσεις της θέσης-στόχου τους, των πρωτεϊνών που δεσμεύουν την πενικιλίνη. (PBP). Έχει υποστηριχθεί ότι αυτό το φαινόμενο οφείλεται πιθανότατα σε σημαντικές διαφορές στο περιβάλλον του κυττάρου μεταξύ gram-αρνητικών και gram-θετικών. Στην πρώτη, η παρουσία εξωτερικής μεμβράνης επιτρέπει τον "έλεγχο" της εισόδου μορίων στον περιπλασματικό χώρο. Πράγματι, οι περισσότερες β-λακτάμες απαιτούν συγκεκριμένες πορίνες για να φτάσουν στα PBP, τα οποία βρίσκονται στην εσωτερική μεμβράνη. Επομένως, το βακτηριακό κύτταρο ελέγχει την πρόσβαση αυτών των μορίων στον περιπλασματικό χώρο επιτρέποντας την παραγωγή β-λακταμασών σε επαρκείς συγκεντρώσεις για να ανατρέψει την κινητική υπέρ της καταστροφής του μορίου αντιβιοτικού. Αντίθετα, αυτό το πλεονέκτημα «διαμερισματοποίησης» απουσιάζει σε θετικούς κατά gram οργανισμούς, αν και η παραγωγή β-λακταμασών φαίνεται επίσης να είναι επιτυχής σε ορισμένα σενάρια (π.χ., σταφυλοκοκκική πενικιλινάση).

3.4.1 Περιορισμός της πρόσληψης φαρμάκου

Υπάρχει μια φυσική διαφορά στην ικανότητα των βακτηρίων να περιορίζουν την πρόσληψη αντιμικροβιακών παραγόντων. Η δομή και οι λειτουργίες του στρώματος λιποσακχαριτών (LPS) σε αρνητικά κατά gram βακτήρια παρέχει φράγμα σε ορισμένους τύπους μορίων. Αυτό δίνει σε αυτά τα βακτήρια έμφυτη αντίσταση σε ορισμένες ομάδες μεγάλων αντιμικροβιακών παραγόντων. Τα μυκοβακτήρια έχουν μια εξωτερική μεμβράνη που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια και έτσι τα υδρόφοβα φάρμακα όπως η ριφαμπικίνη και οι φθοροκινολόνες έχουν ευκολότερη πρόσβαση στο κύτταρο, αλλά τα υδρόφιλα φάρμακα έχουν περιορισμένη πρόσβαση (Reygaett, 2018).

Τα βακτήρια που στερούνται κυτταρικού τοιχώματος, όπως το *Mycoplasma* και τα σχετικά είδη, είναι επομένως εγγενώς ανθεκτικά σε όλα τα φάρμακα που στοχεύουν στο κυτταρικό τοίχωμα, συμπεριλαμβανομένων των β-λακταμών και των γλυκοπεπτιδίων.

Τα θετικά κατά gram βακτήρια δεν διαθέτουν εξωτερική μεμβράνη και ο περιορισμός της πρόσβασης στα φάρμακα δεν είναι τόσο εκτεταμένος. Στους εντεροκόκκους, το γεγονός ότι τα πολικά μόρια δυσκολεύονται να διεισδύσουν στο κυτταρικό τοίχωμα δίνει εγγενή αντίσταση στις αμινογλυκοσίδες. Ένα άλλο gram θετικό βακτήριο, ο *Staphylococcus aureus*, έχει αναπτύξει πρόσφατα αντοχή στη βανκομυκίνη. Από τους δύο μηχανισμούς που χρησιμοποιεί ο *S. aureus* έναντι της βανκομυκίνης, ένας ακόμη ανεξήγητος μηχανισμός επιτρέπει στα βακτήρια να παράγουν ένα πυκνό κυτταρικό τοίχωμα που καθιστά δύσκολη την είσοδο του φαρμάκου στο κύτταρο και παρέχει μια ενδιάμεση αντίσταση στη βανκομυκίνη. Αυτά τα στελέχη χαρακτηρίζονται ως στελέχη VISA (Reygaett, 2018).

Σε αυτά τα βακτήρια με μεγάλες εξωτερικές μεμβράνες, οι ουσίες εισέρχονται συχνά στο κύτταρο μέσω διαύλων πορίνης. Τα κανάλια της πορίνης σε βακτήρια αρνητικά κατά gram επιτρέπουν γενικά πρόσβαση σε υδρόφιλα μόρια. Υπάρχουν δύο κύριοι τρόποι με τους οποίους οι αλλαγές της πορίνης μπορούν να περιορίσουν την πρόσληψη φαρμάκων: μείωση του αριθμού των υπαρχόντων πορίνων και μεταλλάξεις που αλλάζουν την εκλεκτικότητα του καναλιού της πορίνης. Τα μέλη των *Enterobacteriaceae* είναι γνωστό ότι γίνονται ανθεκτικά λόγω της μείωσης του αριθμού των πορίνων (και κάποια στιγμή της παύσης εξ ολοκλήρου της παραγωγής

ορισμένων πορίνων). Ως ομάδα, αυτά τα βακτήρια μειώνουν τον αριθμό πορίνης ως μηχανισμό αντοχής στις καρβαπενέμες. Μεταλλάξεις που προκαλούν αλλαγές στο κανάλι της πορίνης έχουν παρατηρηθεί στο *E. aerogenes*, το οποίο στη συνέχεια γίνεται ανθεκτικό στην ιμιπενέμη και ορισμένες κεφαλοσπορίνες, και στη *Neisseria gonorrhoeae* που στη συνέχεια γίνεται ανθεκτική στις β-λακτάμες και την τετρακυκλίνη (Reygaett, 2018).

Ένα άλλο ευρέως διαδεδομένο φαινόμενο στον αποικισμό των βακτηρίων είναι ο σχηματισμός ενός βιοφίλμ από μια βακτηριακή κοινότητα. Αυτά τα βιοφίλμ μπορεί να περιέχουν έναν κυρίαρχο οργανισμό (όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τον *Pseudomonas aeruginosa* στον πνεύμονα) ή μπορεί να αποτελούνται από μια μεγάλη ποικιλία οργανισμών, όπως φαίνεται στο βιοφίλμ της φυσιολογικής χλωρίδας που σχηματίζεται στο έντερο. Για τους παθογόνους οργανισμούς, ο σχηματισμός ενός βιοφίλμ προστατεύει τα βακτήρια από την επίθεση από το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή, συν το γεγονός ότι παρέχει προστασία από αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η παχιά, κολλώδης σύσταση της μήτρας βιοφίλμ που περιέχει πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και DNA από τα μόνιμα βακτήρια, καθιστά δύσκολο για τους αντιμικροβιακούς παράγοντες να φτάσουν στα βακτήρια. Έτσι, για να είναι αποτελεσματική η αντιμετώπιση μίας λοίμωξης, είναι απαραίτητες πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις φαρμάκων. Επιπλέον, τα βακτηριακά κύτταρα στο βιοφίλμ τείνουν να είναι επιφυλακτικά ως προς τον πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξή τους (αργός ρυθμός μεταβολισμού, αργή κυτταρική διαίρεση), οπότε τα αντιμικροβιακά που στοχεύουν στα αναπτυσσόμενα, διαιρούμενα βακτηριακά κύτταρα έχουν μικρή επίδραση. Μια σημαντική παρατήρηση σχετικά με τα βιοφίλμ είναι ότι είναι πιθανό ότι η οριζόντια μεταφορά γονιδίων διευκολύνεται από την εγγύτητα των βακτηριακών κυττάρων. Αυτό σημαίνει ότι η ανταλλαγή γονιδίων αντιμικροβιακής αντοχής είναι δυνητικά ευκολότερη για αυτές τις βακτηριακές κοινότητες (Mah, 2012).

3.4.2 Τροποποίηση – όπως με μετάλλαξη ή αντικατάσταση - του στόχου δράσης των φαρμάκων

Υπάρχουν πολλά συστατικά στο βακτηριακό κύτταρο που μπορεί να είναι στόχοι αντιμικροβιακών παραγόντων. και υπάρχουν εξίσου πολλοί στόχοι που μπορεί να τροποποιηθούν από τα βακτήρια για να καταστεί δυνατή η αντίσταση σε

αυτά τα φάρμακα. Ένας μηχανισμός αντίστασης στα φάρμακα β-λακτάμης που χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά από θετικά κατά gram βακτήρια είναι μέσω αλλαγών στη δομή και/ή τον αριθμό των PBPs (πρωτεΐνες που συνδέουν την πενικιλίνη). Τα PBP είναι τρανσπεπτιδάσες που εμπλέκονται στην κατασκευή πεπτιδογλυκάνης στο κυτταρικό τοίχωμα. Μια αλλαγή στον αριθμό (αύξηση των PBP που έχουν μείωση της ικανότητας σύνδεσης φαρμάκου ή μείωση των PBP με φυσιολογική σύνδεση με φάρμακο) των PBP επηρεάζει την ποσότητα φαρμάκου που μπορεί να συνδεθεί με αυτόν τον στόχο. Μια αλλαγή στη δομή (π.χ. PBP2a στο *S. aureus* με απόκτηση του γονιδίου *mecA*) μπορεί να μειώσει την ικανότητα του φαρμάκου να δεσμεύεται ή να αναστέλλει εντελώς τη σύνδεση του φαρμάκου (Beceiroetal., 2013).

Η αντίσταση στη βανκομυκίνη έχει γίνει μείζον ζήτημα στους εντεροκόκκους (VRE-ανθεκτικοί στη βανκομυκίνη εντεροκόκκοι) και στον *Staphylococcus aureus* (MRSA). Η αντίσταση πραγματοποιείται μέσω της απόκτησης γονιδίων *van* που έχει ως αποτέλεσμα αλλαγές στη δομή των προδρόμων μορίων πεπτιδογλυκάνης που προκαλούν μείωση της ικανότητας σύνδεσης της βανκομυκίνης σε αυτά (Beceiroetal., 2013).

Η δαπτομυκίνη απαιτεί την παρουσία ασβεστίου για σύνδεση. Μεταλλάξεις σε γονίδια (π.χ. *mprF*) αλλάζουν το φορτίο της επιφάνειας της κυτταρικής μεμβράνης σε θετικό, αναστέλλοντας τη σύνδεση του ασβεστίου, και ως εκ τούτου, τη σύνδεση άρα και τη δράση της δαπτομυκίνης (Reygaett, 2018).

Η αντίσταση στα φάρμακα που στοχεύουν στις ριβοσωμικές υπομονάδες μπορεί να εμφανιστεί μέσω ριβοσωματικής μετάλλαξης (αμινογλυκοσίδες, οξαζολιδινόνες), μεθυσίωση ριβοσωμικών υπομονάδων (αμινογλυκοσίδες, μακρολίδια - gram θετικά βακτήρια, οξαζολιδινόνες, στρεπτογραμίνες) που αφορούν συχνότερα γονίδια του *erm* ή ριβοσωμική προστασία (τετρακυκλίνες). Αυτοί οι μηχανισμοί παρεμβαίνουν στην ικανότητα του φαρμάκου να δεσμεύεται στο ριβοσώμα. Το επίπεδο παρεμβολών φαρμάκων ποικίλλει σημαντικά μεταξύ αυτών των μηχανισμών (Kumaretal., 2013).

Για φάρμακα που στοχεύουν στη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων (φθοροκινολόνες), η αντίσταση πετυχαίνεται μέσω τροποποιήσεων-μεταλλάξεων στο ένζυμο γυράση του DNA (gram αρνητικά βακτήρια - π.χ. *gyrA*) ή στην τοποϊσομεράση IV (gram θετικά βακτήρια - π.χ. *grlA*). Αυτές οι μεταλλάξεις προκαλούν αλλαγές στη δομή της γυράσης και της τοποϊσομεράσης που μειώνουν ή

εξαλείφουν την ικανότητα του φαρμάκου να δεσμεύεται με αυτά τα συστατικά (Redgraveetal., 2014).

Για τα φάρμακα που αναστέλλουν τις μεταβολικές οδούς, η αντίσταση είναι μέσω μεταλλάξεων σε ένζυμα (DHPS - διϋδροπτεροϊκήσυνθάση, DHFR - διυδροφολικήαναγωγή) που εμπλέκονται στην οδό βιοσύνθεσης του φυλλικού οξέος και/ή υπερπαραγωγή ανθεκτικών ενζύμων DHPS και DHFR (σουλφοναμίδια - DHPS, τριμεθοπρίμη - DHFR). Τα σουλφοναμίδια και η τριμεθοπρίμη συνδέονται με τα αντίστοιχα ένζυμά τους λόγω δομικών αναλόγων των φυσικών υποστρωμάτων (σουλφοναμίδια-π-αμινο-βενζοϊκό οξύ, τριμεθοπρίμη-διυδροφολικό). Η δράση αυτών των φαρμάκων είναι μέσω ανταγωνιστικής αναστολής με σύνδεση στη δραστική θέση των ενζύμων. Οι μεταλλάξεις σε αυτά τα ένζυμα εντοπίζονται συχνότερα μέσα ή κοντά στο ενεργό σημείο και οι προκύπτουσες δομικές αλλαγές στο ένζυμο παρεμβαίνουν στη δέσμευση του φαρμάκου ενώ επιτρέπουν στο φυσικό υπόστρωμα να δεσμεύεται (Reygaett, 2018).

3.4.3 Απενεργοποίηση ενός φαρμάκου

Υπάρχουν δύο κύριοι τρόποι με τους οποίους τα βακτήρια αδρανοποιούν τα φάρμακα. με πραγματική υποβάθμιση του φαρμάκου ή με μεταφορά μιας χημικής ομάδας στο φάρμακο. Οι β-λακταμάσες είναι μια πολύ μεγάλη ομάδα ενζύμων υδρόλυσης φαρμάκων. Ένα άλλο φάρμακο που μπορεί να απενεργοποιηθεί με υδρόλυση είναι η τετρακυκλίνη, μέσω του γονιδίου tetX (Blairretal, 2014b).

Η απενεργοποίηση του αντιβιοτικού με μεταφορά μιας χημικής ομάδας στο μόριο του φαρμάκου χρησιμοποιεί συχνότερα τη μεταφορά ομάδων ακετυλίου, φωσφορυλίου και αδενυλίου. Υπάρχει μεγάλος αριθμός τρανσφερασών που έχουν ταυτοποιηθεί και είναι υπεύθυνες για τις μεταφορές αυτές. Η ακετυλίωση είναι ο πιο χρησιμοποιούμενος και ποικιλόμορφος μηχανισμός και είναι γνωστό ότι χρησιμοποιείται κατά των αμινογλυκοσίδων, της χλωραμφενικόλης, των στρεπτογραμμινών και των φθοροκινολονών. Η φωσφορυλίωση και η αδενυλίωση είναι γνωστό ότι χρησιμοποιούνται κυρίως κατά των αμινογλυκοσίδων (Blairretal, 2014b).

3.4.4 Ενεργή εκροή ενός φαρμάκου.

Τα βακτήρια διαθέτουν χρωμοσωμικά κωδικοποιημένα γονίδια τα οποία λειτουργούν ως αντλίες εκροής. Μερικά εκφράζονται συστηματικά και άλλα προκαλούνται ή υπερεκφράζονται (η υψηλή αντίσταση συνήθως είναι μέσω μιας μετάλλαξης που τροποποιεί το κανάλι μεταφοράς) υπό ορισμένα περιβαλλοντικά ερεθίσματα ή όταν υπάρχει ένα κατάλληλο υπόστρωμα. Οι αντλίες εκροής λειτουργούν κυρίως για να απαλλάξουν το βακτηριακό κύτταρο από τοξικές ουσίες και πολλές από αυτές τις αντλίες θα μεταφέρουν μια μεγάλη ποικιλία ενώσεων (αντλίες εκροής πολλαπλών φαρμάκων [MDR]). Η ικανότητα αντίστασης πολλών από αυτές τις αντλίες επηρεάζεται από την πηγή άνθρακα που είναι διαθέσιμη (Blair et al., 2014a).

Τα περισσότερα βακτήρια διαθέτουν πολλούς διαφορετικούς τύπους αντλιών εκροής. Υπάρχουν πέντε κύριες οικογένειες αντλιών εκροής σε βακτήρια που ταξινομούνται με βάση τη δομή και την πηγή ενέργειας:

- 1. Η οικογένεια κασέτας δέσμησης ATP (ABC).** Η οικογένεια εκροών ABC περιέχει συστήματα μεταφοράς απορρόφησης και απορροής. Τα μέλη αυτής της οικογένειας είναι μοναδικά στο ότι χρησιμοποιούν ενέργεια που προέρχεται από την υδρόλυση ATP. Αυτές οι αντλίες μεταφέρουν αμινοξέα, φάρμακα, ιόντα, πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες και σάκχαρα. Οι βακτηριακοί μεταφορείς ABC συνήθως αποτελούνται από έξι διαμεμβρανικά τμήματα (TMS) που αποτελούνται από α-έλικες, λειτουργούν στη μεμβράνη σε ζεύγη, είτε ως ομοδιμερή είτε ως ετεροδιμερή, και λειτουργούν σε συνδυασμό με κυτταροπλασματικές ATPάσες. Αυτές οι αντλίες έχουν αρκετά συγκεκριμένα υποστρώματα και είναι πολύ λίγα που βρίσκονται σε κλινικά σημαντικά βακτήρια. Μια αξιοσημείωτη αντλία ABC βρίσκεται στο *Vibrio cholerae* (VcaM) και είναι ικανή να μεταφέρει φθοριοκινολόνες και τετρακυκλίνη (Kumaretal., 2013).
- 2. Η οικογένεια πολλαπλών φαρμάκων και η τοξική σύνθεση εξώθησης (MATE).** Η οικογένεια εκροών MATE χρησιμοποιεί βαθμίδα Na^+ ως πηγή ενέργειας και κατιονικές χρωστικές εκροής στα περισσότερα φάρμακα φθοροκινολόνης εκροής. Ορισμένες αντλίες MATE έχουν επίσης αποδειχθεί ότι έχουν την δυνατότητα να εκρέουν ορισμένες αμινογλυκοσίδες. Άλλα υποστρώματα για αυτές τις αντλίες μπορεί να έχουν άσχετες χημικές δομές. Αυτές οι αντλίες αποτελούνται από δώδεκα TMS. Πολύ λίγα από αυτά έχουν χαρακτηριστεί σε βακτήρια και τα περισσότερα βρίσκονται σε gram

αρνητικούς οργανισμούς. Η πρώτη που χαρακτηρίστηκε ήταν η αντλία NorM από χρωμοσωμικό DNA στο *Vibrioparahaemolyticus*. Άλλα κλινικά σημαντικά βακτήρια που έχουν αντλίες NorM περιλαμβάνουν *Neisseriagonorrhoeae* και *Neisseriameningitidis* (Kuroda&Tsuchiya, 2009)

3. **Η μικρή οικογένεια αντοχής πολλών φαρμάκων (SMR).** Η οικογένεια εκρών SMR ενεργοποιείται από τη δύναμη κίνησης πρωτονίων (H⁺), είναι υδρόφοβες και η ροή είναι κυρίως λιπόφιλακατιόντα, επομένως μπορεί να έχει πολύ στενό εύρος υποστρώματος. Τα γονίδια για αυτές τις αντλίες έχουν βρεθεί στο χρωμοσωμικό DNA και σε πλασμίδια και στοιχεία που μπορούν να μεταφερθούν. Αυτές οι αντλίες αποτελούνται από τέσσερα TMS και λειτουργούν ως ασύμμετρα ομοτετραμετρικά. Η εκροή φαρμάκων έχει παρατηρηθεί μόνο σε μερικές από αυτές τις αντλίες, και αυτές προσφέρουν συχνότερα αντοχή στις β-λακτάμες και σε ορισμένες αμινογλυκοσίδες. Παραδείγματα αντλιών SMR παρατηρούνται στο *Staphylococcus epidermidis* (η αντλία SMR που μεταφέρει αμπικιλίνη, ερυθρομικίνη και τετρακυκλίνη) και *Escherichia coli* (η αντλία EmrR που μεταφέρει βανκομικίνη, ερυθρομικίνη και τετρακυκλίνη) (Blair et al, 2014a).
4. **Ηυπεροικογένειας εκρών MFS.** Η οικογένεια εκρών MFS καταλύει τη μεταφορά μέσω συμπαγούς διαλυμένης ουσίας/κατιόντος (H⁺ ή Na⁺) ή διαχωρισμένου διαλύματος/H⁺ αντιθαλάμου. Συμμετέχουν στη μεταφορά ανιόντων, φαρμάκων (π.χ. μακρολίδων και τετρακυκλίνης), μεταβολιτών (π.χ. χολικών αλάτων) και σακχάρων. Οι αντλίες MFS έχουν τη μεγαλύτερη ποικιλία υποστρώματος ως ομάδα, αλλά μεμονωμένα τείνουν να είναι συγκεκριμένες για το υπόστρωμα. Παραδείγματα αυτής της εξειδίκευσης υποστρώματος περιλαμβάνουν το *Acinetobacter baumannii* που διαθέτει ξεχωριστές αντλίες MFS για ερυθρομικίνη (SmvA) και χλωραμφαινικόλη (CraA και CmlA), και *Escherichia coli* με ξεχωριστές αντλίες MFS για μακρολίδια (MefB), φθοροκινολόνες (QepA), και trimethoprim. Υπάρχουν σπάνια παραδείγματα αντλιών MFS με ελαφρώς ευρύτερη ειδικότητα υποστρώματος, όπως στην αντλία NorA στο *Staphylococcus aureus* που μεταφέρει φθοροκινολόνες και χλωραμφαινικόλη (αυτά τα αντιμικροβιακά είναι τα πιο συχνά μεταφερόμενα με αντλίες MFS) ή η αντλία *S. aureus* LmrS που μεταφέρει λινεζολίδη, ερυθρομικίνη, χλωραμφαινικόλη και τριμεθοπρίμη. Αυτές οι αντλίες αποτελούνται από δώδεκα ή δεκατέσσερα TMS και πάνω

από 1.000 έχουν προσδιοριστεί σε βακτήρια. Οι περισσότερες αντλίες MFS έχουν βρεθεί σε βακτηριακά χρωμοσώματα και σχεδόν το 50% των αντλιών εκροής στο *E. coli* είναι αντλίες MFS (Blair et al., 2014a).

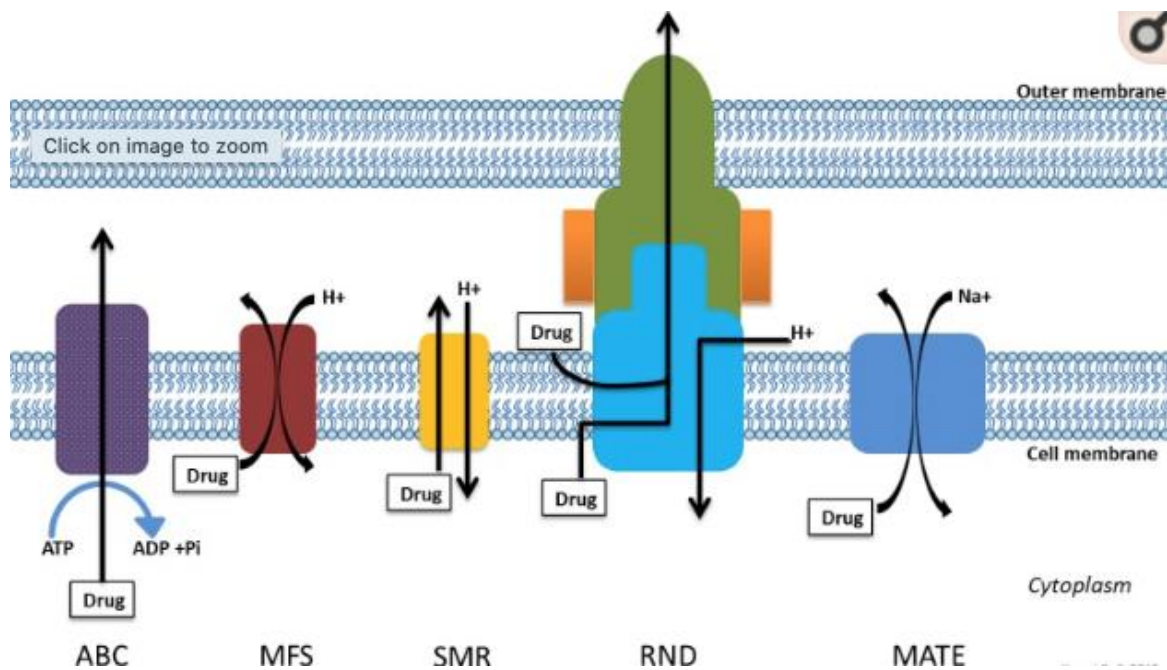
5. Η οικογένεια αντίστασης-οζώματος-κυτταρικής διαίρεσης (RND). Τα μέλη της οικογένειας εκροής RND καταλύουν την εκροή υποστρώματος μέσω ενός μηχανισμού αντιστρώματος υποστρώματος/H⁺ και βρίσκονται σε πολυάριθμα αρνητικά κατά gram βακτήρια. Συμμετέχουν στην εκροή αντιβιοτικών (όλα είναι μεταφορείς πολλαπλών φαρμάκων), απορρυπαντικά, βαφές, βαρέα μέταλλα, διαλύτες και πολλά άλλα υποστρώματα. Μερικές από αυτές τις αντλίες μπορεί να είναι συγκεκριμένες για φάρμακα ή φάρμακα (αντλία Tet - τετρακυκλίνη, αντλία Mef - μακρολίδες). Πολλές άλλες αντλίες RND είναι ικανές να μεταφέρουν ένα ευρύ φάσμα φαρμάκων, όπως η αντλία MexAB-OprM στο *Pseudomonas aeruginosa* που προσδίδει εγγενή αντίσταση στις β-λακτάμες, τη χλωραμφενικόλη, την τετρακυκλίνη, την τριμεθοπρίμη, τη σουλφαμεθοξαζόλη και μερικές φθοροκινολόνες. Αυτές οι αντλίες είναι πολύπλοκες αντλίες πολλαπλών συστατικών που γενικά αποτελούνται από δώδεκα TMS και περιέχουν δύο μεγάλους περιπλασματικούς βρόχους μεταξύ TMS 1 και 2 και TMS 7 και 8. Προκειμένου να λειτουργήσουν, αυτές οι αντλίες θα συνδεθούν με ένα OMP και η σύνδεση αυτή θα σταθεροποιηθεί MFPs. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτές οι αντλίες μοιράζονται υψηλό βαθμό ομολογίας μεταξύ των μελών του RND. Τα γονίδια για τις αντλίες RND είναι γενικά οργανωμένα ως οπερόνιο. Σε πολλά, η γονιδιακή οργάνωση έχει ως εξής: το γονίδιο για τον ρυθμιστή (το οποίο μπορεί να μεταγραφεί προς την αντίθετη κατεύθυνση με τα άλλα γονίδια) είναι δίπλα στο γονίδιο MFP, το οποίο είναι δίπλα στο κύριο γονίδιο της αντλίας και στη συνέχεια το γονίδιο OMP. Το *Pro*βσως η πιο ευρέως μελετημένη αντλία RND είναι η αντλία AcrAB-TolC στο *Escherichia coli*, η οποία παρέχει αντίσταση στις πενικιλίνες, τη χλωραμφαινικόλη, τα μακρολίδια, τις φθοροκινολόνες και την τετρακυκλίνη. Η πρωτεΐνη αντλίας AcrB περιέχει δύο θύλακες σύνδεσης που επιτρέπουν τη σύνδεση υποστρωμάτων ποικίλου μεγέθους και χημικών ιδιοτήτων (Blair et al., 2014a).

Οι περισσότερες από αυτές τις οικογένειες αντλιών εκροής είναι αντλίες ενός συστατικού που μεταφέρουν υποστρώματα σε όλη την κυτταροπλασματική μεμβράνη. Η οικογένεια RND είναι αντλίες πολλαπλών συστατικών (βρίσκονται

σχεδόν αποκλειστικά σε βακτήρια αρνητικά κατά gram) που λειτουργούν σε συνδυασμό με μια πρωτεΐνη σύντηξης περιπλασματικής μεμβράνης (MFP) και μια πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης (OMP-πορίνη) για να εκρέει το υπόστρωμα σε ολόκληρο το κυτταρικό περίβλημα (Blair *et al.*, 2014b). Υπάρχουν περιπτώσεις όπου άλλα μέλη της οικογένειας εκροής ενεργούν με άλλα κυτταρικά συστατικά ως αντλίες πολλών συστατικών σε αρνητικά κατά gram βακτήρια. Ένα μέλος της οικογένειας ABC, το MacB, εργάζεται ως τριμερής αντλία (MacAB-ToIC) για την εξώθηση φαρμάκων μακρολίδης. Ένα μέλος του MFS, EmrB, λειτουργεί ως τριμερής αντλία (EmrAB-ToIC) για την εξώθηση ναλιδιξικού οξέος σε *E. coli* (Reygaert, 2018).

Οι αντλίες εκροής που βρέθηκαν σε θετικά κατά βακτήρια μπορεί να προσφέρουν εγγενή αντίσταση λόγω της κωδικοποίησης στο χρωμόσωμα. Αυτές οι αντλίες περιλαμβάνουν μέλη των οικογενειών MATE και MFS και φθοροκινολόνες εκροής. Υπάρχουν επίσης αντλίες εκροής θετικών κατά gram που είναι γνωστό ότι μεταφέρονται σε πλασμίδια. Επί του παρόντος, οι χαρακτηρισμένες αντλίες σε gram θετικά βακτήρια προέρχονται από την οικογένεια MFS. Οι αντλίες εκροής που βρέθηκαν σε αρνητικά κατά gram βακτήρια είναι ευρέως διαδεδομένες και μπορεί να προέρχονται και από τις πέντε οικογένειες, με τις πιο κλινικά σημαντικές αντλίες να ανήκουν στην οικογένεια RND (Blair *et al.*, 2014a).

Η παρακάτω εικόνα δείχνει τη βασική δομή των διαφόρων οικογενειών αντλιών εκροής.



Εικόνα6: Τύποι αντλιών εκροής βακτηριακών κυττάρων

Πηγή : Reygaett, 2018

3.5 Περιβάλλον και ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών στα αντιμικροβιακά φάρμακα

Οι ανθεκτικοί οργανισμοί διαδίδονται από τον άνθρωπο στα ζώα και αντίστροφα, συχνά μέσω διαφόρων περιβαλλοντικών οδών, συμπεριλαμβανομένων τροφίμων, ζωικών αποβλήτων και πηγών νερού. Ωστόσο, παρόλο που τα προϊόντα διατροφής μπορεί να έχουν τα καθορισμένα μέγιστα όρια καταλοίπων αντιβιοτικών, δεν υπάρχει καθοριστική οδηγία σχετικά με την παρουσία ανθεκτικών βακτηρίων ή καθοριστικών αντοχών στις πηγές νερού. Οι τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές για την ποιότητα του νερού τείνουν να επικεντρώνονται μόνο σε συγκεκριμένα βακτήρια, αλλά δεν έχουν τις κατάλληλες οδηγίες για την παρουσία αντιβιοτικών που έχουν εισαχθεί από τους κατασκευαστές, την οικιακή διάθεση, τη γεωργία και/ή τον ιατρικό τομέα. Επιπλέον, άλλες περιβαλλοντικές πηγές αντιβιοτικών και γονιδίων αντοχής, όπως ανθρώπινα και γεωργικά απόβλητα, στερούνται ισχυρής καθοδήγησης, ιδιαίτερα για τη διαχείριση του κινδύνου. Ως εκ τούτου, απαιτείται νέα καθοδήγηση και ενέργειες για τη μείωση των πιέσεων επιλογής σε φυσικά και καλλιεργούμενα

περιβάλλοντα/υδατοκαλλιέργειες και επίσης για τη μείωση των ποσοστών έκθεσης του ανθρώπου σε ανθεκτικά στελέχη. Μια προτεραιότητα θα πρέπει να περιλαμβάνει τη διαχείριση κινδύνου για την ελαχιστοποίηση των υπολειμμάτων αντιβιοτικών και των ανθεκτικών βακτηρίων σε εγκαταστάσεις εντατικών ζώων καθώς και από υδατοκαλλιέργειες (Finleyetal., 2013).

Η αντιμικροβιακή αντοχή δεν αποτελεί πρόβλημα μόνο για τη θεραπεία λοιμώξεων. Η μαζική ρύπανση με αντιβιοτικά, βιοκτόνα, βαρέα μέταλλα και άλλες ανθρωπογενείς ουσίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αντιμετωπισθούν οι ανθεκτικοί πληθυσμοί βακτηρίων μπορεί να οδηγήσει σε ανισορροπίες στην ομοιοστάση μικροβιακών κοινοτήτων σε όλη τη βιόσφαιρα. Αυτά τα ανθεκτικά μικρόβια μπορεί να αντικαταστήσουν αυτά που είναι ευαίσθητα και οι ανισορροπίες που παράγονται από αντιβιοτικά μεταξύ των πρωτογενών παραγωγών και των υπολειμμάτων αποσύνθεσης τους θα μπορούσαν να διαταράξουν τα φυσικά οικοσυστήματα, με σοβαρές συνέπειες για το περιβάλλον στο σύνολό του(Hermando-Amadoetal., 2019).

Για παράδειγμα, μπορεί να εξετάσει κανείς τα κυανοβακτήρια, τα οποία αποτελούν έως και το 70% της συνολικής μάζας του φυτοπλαγκτόν και είναι υπεύθυνα για περισσότερο από το 25% της συνολικής παραγωγής ελεύθερου οξυγόνου και περίπου ένα ισοδύναμο ποσοστό στερέωσης διοξειδίου του άνθρακα. Τα κυανοβακτήρια είναι συχνά ευαίσθητα σε ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά, και το ερώτημα αν θα μπορούσαν να αντικατασταθούν από πιο ανθεκτικά βακτηριακά είδη έχει τραβήξει την προσοχή του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Ιατρική. Ωθησε την ανάπτυξη δοκιμών για την αξιολόγηση της επίδρασης των αντιμικροβιακών παραγόντων στο υδάτινο περιβάλλον. Η σύγκλιση των στρατηγικών για τη δημόσια υγεία και την προστασία του περιβάλλοντος καθίσταται σαφής κατά την ανάλυση των οικολογικών συνεπειών της χρήσης αντιβιοτικών, καθώς η διατήρηση οικολογικών συνθηκών που διατηρούν την ποικιλία και την αφθονία των πράσινων φυκιών και των κυανοβακτηρίων, που βοηθούν στην προστασία του ιστού τροφίμων και των βιογεωχημικών κύκλων, επηρεάζουν επίσης τη βιοαποδόμηση των αντιβιοτικών(Hermando-Amadoetal., 2019).

Ωστόσο, το πιθανό οικολογικό πρόβλημα της ρύπανσης με αντιβιοτικά δεν περιορίζεται στα μικροβιώματα του περιβάλλοντος. Η διαταραχή των μικροβιωμάτων του εντέρου που προκαλείται από αντιβιοτικά μπορεί να ευνοήσει την απόκτηση διαφορετικών ασθενειών στον άνθρωπο (όπου εστιάζονται οι περισσότερες μελέτες

σε αυτόν τον τομέα) και σε άλλους ξενιστές (για παράδειγμα, η έκθεση σε αντιβιοτικά τροποποιεί το μικροβίωμα του εντέρου και αυξάνει τη θνησιμότητα των μελισσών). Ωστόσο, παραμένει ασαφές εάν τα αποτελέσματα αυτών των εργαστηριακών μελετών μεταφράζονται άμεσα στη ρύθμιση του πεδίου(Hermando-Amadoetal., 2019).

Η αντικατάσταση βασικών περιβαλλοντικών παραγόντων από ανθεκτικά στα αντιβιοτικά στοιχεία, ωστόσο, δεν μπορεί να είναι ο μόνος παράγοντας που πρέπει να ληφθεί υπόψη, καθώς η εκτεταμένη χρήση άλλων βιοκτόνων περιβαλλοντικά απελευθερωμένων, όπως τα ζιζανιοκτόνα και τα εντομοκτόνα (που σκοτώνουν τους ξενιστές μικροοργανισμών), πρέπει επίσης να επηρεάσει τη συνολική μικροβιακή οικολογία και κατά συνέπεια, την αντιμικροβιακή αντίσταση. Στην πραγματικότητα, η αντιμικροβιακή αντίσταση εξαρτάται από την τριάδα One Health (άνθρωποι, ζώα και περιβάλλον) και οι άνθρωποι επωφελούνται από ένα ποικίλο, ισορροπημένο, υγιές περιβάλλον στο οποίο μειώνονται οι πιθανοί κίνδυνοι και διατηρούνται οι υπηρεσίες των οικοσυστημάτων και η δυναμική τους εξέλιξη(Hermando-Amadoetal., 2019).

Μελετητές συνέστησαν τη χρήση λιπασματοποίησης και πέψης κοπριάς για την υποβάθμιση οποιουδήποτε υπολοίπου αντιβιοτικού που υπάρχει στην κοπριά των ζώων, καθώς και την ανάγκη για καλύτερες μεθόδους εκτροφής των ψαριών για τη μείωση των επιπέδων της νόσου και την ανάγκη για κανονισμούς και παρακολούθηση για αντιβιοτικά χρήση στην υδατοκαλλιέργεια. Επιπλέον, έγιναν αρκετές συστάσεις για την αφαίρεση αντιβιοτικών ή γονιδίων αντοχής στα αντιβιοτικά που υπάρχουν στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων, εξετάζοντας διαφορετικά στοιχεία της διαδικασίας καθαρισμού του νερού ως κρίσιμα σημεία ελέγχου. Ωστόσο, η αύξηση της αντοχής στα αντιβιοτικά δεν θα αντιστραφεί μόνο με την αφαίρεση της εκλεκτικής πίεσης. Ο ρυθμός απόκτησης αντίστασης από εγγενείς πηγές πρέπει να μειωθεί, ειδικά σε ανθρώπινα παθογόνα, και αυτό μπορεί να γίνει μόνο μέσω πολύ μεγαλύτερης εξέτασης του φυσικού περιβάλλοντος στη μετάδοση αντίστασης. Μια προσέγγιση One Health είναι σαφώς απαραίτητη για να αντιμετωπιστούν όλες οι διαφορετικές συνεισφορές που βοηθούν στην ανάπτυξη και τη διάδοση των ανθεκτικών στους μικροβίων μικροοργανισμών. Δεν αρκεί να λειτουργούν ανεξάρτητα όλοι οι τομείς. οι επικοινωνίες και οι συνεργασίες πρέπει να ενισχυθούν για να είναι αποτελεσματικές και να έχουν αντίκτυπο(Finleyetal., 2013).

3.6 Παγκόσμια κινητοποίηση για τον περιορισμό της μικροβιακής ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

Η αντιμικροβιακή αντίσταση (AMR) αναγνωρίζεται ως μία από τις μεγαλύτερες προκλήσεις για τον Παγκόσμιο Υγεία του 21ου αιώνα από όλους τους σημαντικούς ρυθμιστικούς, οικονομικούς και πολιτικούς φορείς, συμπεριλαμβανομένου του Διεθνούς Νομισματικού Ταμείου, του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO), της Παγκόσμιας Τράπεζας και των G8. Όλοι υποστηρίζουν την επιστημονική άποψη ότι η μικροβιακή ανθεκτικότητα απέναντι στα αντιβιοτικά δεν μπορεί πλέον να αντιμετωπιστεί με απλή μελέτη του προβλήματος στις εγκαταστάσεις υγειονομικής περίθαλψης, καθώς τα περισσότερα οικοσυστήματα συμβάλλουν στην εμφάνιση, απόκτηση και εξάπλωση του. Συνεπώς, το πρόβλημα της ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά φάρμακα εξετάζεται επί του παρόντος από δύο συμπληρωματικές έννοιες, το *OneHealth* και το *GlobalHealth*, που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με μολυσματικές ασθένειες γενικά, και την αντιμικροβιακή αντίσταση ειδικότερα. Και οι δύο έννοιες είναι ολιστικές και διεπιστημονικές και βασίζονται στην ιδέα ότι η υγεία του ανθρώπου και η υγεία των ζώων αλληλοεξαρτώνται καθώς και ότι συνδέονται με την υγεία των οικοσυστημάτων στα οποία αποτελούν μέρος (Hermendo-Amado et al., 2019).



Εικόνα 7: Ενιαία Υγεία/ OneHealth

Οι έννοιες του *OneHealth* και της *GlobalHealth* ενσωματώνουν τόσο τη γνώση των βιολογικών στοιχείων που είναι απαραίτητα για την κατανόηση της εξέλιξης της αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας, συμπεριλαμβανομένων των μικροοργανισμών ή φορέων που εμπλέκονται στην εμφάνιση και τη διάδοσή του, τους οργανισμούς ξενιστές (ανθρώπους ή ζώα) και τα εμπλεκόμενα περιβάλλοντα, καθώς και τα πολιτισμικά και κοινωνικοοικονομικά χαρακτηριστικά που μπορεί να διευκολύνουν τη διάδοσή του. Επομένως, οι διαφορές μεταξύ *OneHealth* και *GlobalHealth* δεν είναι πάντα σαφείς(Hermando-Amadoetal., 2019).

Το *OneHealth* επικεντρώνεται στο ρόλο των διασυνδεδεμένων (και επομένως γεωγραφικά κοντινών) οικοσυστημάτων στα οποία εμφανίζεται και διαδίδεται η αντιμικροβιακή αντίσταση. Οπότε, ως εκ τούτου,το *OneHealth* αντιμετωπίζει την αντιμικροβιακή αντίσταση σε τοπικό επίπεδο καθώς και εστιάζει στην εφαρμογή ολοκληρωμένων παρεμβάσεων για την καταπολέμηση της, σε επίπεδο πόλης ή περιφέρειας. Η *GlobalHealth*, αντίθετα αντιμετωπίζει τις παγκόσμιες συνθήκες που διευκολύνουν την παγκόσμια εξάπλωση της αντιμικροβιακής αντοχής και έχει τις ρίζες της στην ιδέα ότι ο έλεγχος της απαιτεί ολοκληρωμένες πολιτικές και κοινωνικοοικονομικές ενέργειες που πρέπει να αναληφθούν από χώρες, διεθνείς οργανισμούς και άλλους παράγοντες στην παγκόσμια σκηνή (Hermando-Amadoetal., 2019).

Το *GlobalHealth* και το *OneHealth* είναι συνεργαζόμενα και μπορεί να χρησιμοποιούν παρόμοια εργαλεία,. Είναι ωστόσο αποδεκτό ότι οι τοπικές παρεμβάσεις του *OneHealth* είναι σίγουρα πιο εφικτές από τις παρεμβάσεις του *GlobalHealth*, γεγονός που λαμβάνεται υπόψιν καθώς το τελευταίο διάστημα γίνεται προσπάθεια να υιοθετηθεί μια παγκόσμια πολιτική και να σχεδιαστεί με βαθιά διεθνή και διαπολιτισμική κατανόηση. Από αυτή την άποψη, αξίζει να αναφερθεί ότι δράσεις που μπορούν εύκολα να εφαρμοστούν ως παρεμβάσεις στο τοπικό επίπεδο, *OneHealth* θα ήταν απλώς συστάσεις σε επίπεδο Παγκόσμιας Υγείας λόγω των διαφορετικών κανονισμών σε κάθε χώρα. Τα παγκόσμια σχέδια για την καταπολέμηση της μικροβιακής ανθεκτικότητας απαιτούν την υποστήριξη ισορροπημένων και περιεκτικών επιδημιολογικών και οικολογικών δικτύων επιτήρησης. Απαιτείται επίσης πολυμεταβλητή ανάλυση των οδηγών αντιμετώπισης, συμπεριλαμβανομένων των κοινωνικοδημογραφικών και οικονομικών παραγόντων

που μπορεί να επηρεάσουν την μικροβιακή ανθεκτικότητα, καθώς και εκτιμήσεις του οικονομικού αντίκτυπου των παρεμβάσεων για τη μείωση του (Hernando-Amadoetal., 2019).

Συμπεράσματα

Τα αντιμικροβιακά φάρμακα ανακαλύφθηκαν και εξελίχθηκαν κατά τη διάρκεια του 20^{ου} και 21^{ου} αιώνα. Πρόκειται για χημικές οργανικές ενώσεις που παράγονται από μικροοργανισμούς ή συντίθεται με χρήση τεχνητών ή και ημιτεχνητών συνθετικών οδών. Σκοπός τους είναι η καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών και κυρίως αυτών που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές λοιμώξεις στον άνθρωπο ή τα ζώα.

Τα αντιμικροβιακά φάρμακα ταξινομούνται σε κατηγορίες με διάφορα κριτήρια. Έτσι:

- ανάλογα με το είδος των οργανισμών εναντίον των οποίων δρουν διακρίνονται σε αντιβακτηριακά, αντιμυκητοβακτηριακά, αντιϊικά, αντιμυκητιακά και αντιπαρασιτικά,
- ανάλογα με το φάσμα δράσης τους, δηλαδή αν δρουν εναντίον μίας ομάδας μικροοργανισμών ή περισσότερων, διακρίνονται σε στενού και ευρέος φάσματος
- ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους έναντι των βακτηρίων τα αντιβακτηριακά φάρμακα διακρίνονται σε βακτηριοκτόνα και βακτηριοστατικά

Τα αντιμικροβιακά φάρμακα χρησιμοποιήθηκαν τόσο από την ανθρώπινη ιατρική όσο και από την κτηνοτροφία. Οι κυριότεροι μηχανισμοί δράσης σχετίζονται με το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων και αποσκοπούν στην αναστολή της σύνθεσής του και της καταστροφής του, στην αναστολή της πρωτεϊνοσύνθεσης και της διαδικασίας σύνθεσης των νουκλεϊκών οξέων, στην λειτουργική αλλοίωση της κυτταρικής μεμβράνης των μικροοργανισμών και στην αναστολή ορισμένων μεταβολικών διαδικασιών. Με τους τρόπους αυτούς, τα μικροβιακά κύτταρα καθίστανται ανενεργά, ενώ παράλληλα τα αντιμικροβιακά φάρμακα στοχεύουν αποκλειστικά σε αυτά και όχι στα ανθρώπινα ή ζωικά κύτταρα του οργανισμού που καλούνται να προστατεύσουν.

Ο κύριος λόγος της εμφάνισης της ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών στα αντιμικροβιακά φάρμακα είναι η υπέρμετρη και αλόγιστη χρήση τους, τόσο στην ανθρώπινη ιατρική όσο και στην κτηνοτροφία. Ο κυριότερος παράγοντας που οδηγεί στην εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών μικροοργανισμών στα αντιβιοτικά είναι οι μεταλλάξεις. Μέσω μίας διαδικασίας φυσικής επιλογής, τα στελέχη που είναι

καλύτερα προσαρμοσμένα στις περιβαλλοντικές συνθήκες είναι και αυτά που επιβιώνουν και επικρατούν τελικά. Είναι σημαντικό να διαχωριστεί ο όρος φυσική ή εγγενής αντίσταση ενός μικροοργανισμού σε ένα φάρμακο από την επίκτητη, η οποία οδηγεί στη διαμόρφωση στελεχών με νέες, άγνωστες ιδιότητες.

Οι κυριότεροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί είναι τέσσερις:

- Ο περιορισμός της πρόσληψης του αντιμικροβιακού φαρμάκου. Εξαρτάται από την απουσία ή παρουσία κυτταρικού τοιχώματος και από το αν πρόκειται για gram αρνητικά ή gram θετικά βακτήρια. Οι δίαυλοι πορίνης επηρεάζουν την ανθεκτικότητά τους έναντι των φαρμάκων, ενώ η δημιουργία ενός βιοφιλμ εμποδίζει την είσοδο στο βακτηριακόκυτταρο των αντιβιοτικών, άρα ουσιαστικά το προστατεύει.
- Η τροποποίηση του στόχου δράσης του φαρμάκου. Εάν ο στόχος δράσης υποστεί κάποια αλλαγή, το αντιμικροβιακό φάρμακο δεν δύναται ή δυσκολεύεται να τον εντοπίσει.η αλλαγή αυτή συνήθως είναι κάποια μετάλλαξη
- Η απενεργοποίηση ενός φαρμάκου συνήθως με τη βοήθεια ενζύμων, όπου πραγματοποιείται υποβάθμιση, αλλοίωση του φαρμάκου ή με μεταφορά μίας χημικής ομάδας, τα οποία οδηγούν στην απώλεια του αντιμικροβιακού ρόλου του φαρμάκου
- Η ενεργή εκροή ενός φαρμάκου μέσω αντλιών εκροής

Δύο συμπληρωματικές έννοιες, το *OneHealth* και το *GlobalHealth*, που έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση προβλημάτων που σχετίζονται με την μικροβιακή ανθεκτικότητα. Η πρώτη εφαρμόζεται σε πιο τοπικό επίπεδο και η δεύτερη σε ευρύτερο.

Είναι ότι η ανθεκτικότητα που έχουν αναπτύξει οι μικροοργανισμοί έναντι των αντιμικροβιακών φαρμάκων, απαιτεί για να αναχαιτιστεί τη συμβολή της πολιτείας αλλά και του συνόλου της κοινωνίας. Κάθε άτομο θα πρέπει να γνωρίζει για την ορθολογική χρήση των φαρμάκων αυτών και να κάνει χρήση με επιφύλαξη, μέτρο και υπευθυνότητα.

Βιβλιογραφία

1. Almulhim, A.S. & Alotaibi F.M. (2018). Comparison of broad-spectrum antibiotics and narrow-spectrum antibiotics in the treatment of lower extremity cellulitis. *International Journal of Health Sciences*, 12 (6): 3-7: PMID: PMC6257879
2. Beceiro, A., Tomas, M., Bou, G. (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful of Deleterious Association in the Bacterial World? *ASM Journal*, 26(2): 185-230: <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-12>
3. Bentley, R. & Bennet J.W. (2003). What is an antibiotic? Revisited. *Advances in Applied Microbiology*, 52 (): 303-311: [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(03\)01012-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(03)01012-8)
4. Blair, J.M.A., Richmon, G.E., Piddock L.J. (2014a). Multidrug efflux pumps in Gram-negative bacteria and their role in antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 9 (10): 1165-1177: <https://doi.org/10.2217/fmb.14.66>
5. Blair, J.M.A., Webber, M.A., Baylay, A.J., Ogbolu, D.O., Piddock, L.J.V. (2014b). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (1): 42-51: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>
6. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2019). More People in the United States Dying from Antibiotic-Resistant Infections than Previously Estimated. Available online (20/08/2021): <https://www.cdc.gov/media/releases/2019/p1113-antibiotic-resistant.html>
7. Clark, D.P., Pazdernik, N.J., McGehee, M.R. (2019). Chapter 13 – Protein Synthesis. In the book *Molecular Biology* (Third Edition), 397-444: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00013-6>
8. Coculescu, B.I. (2009). Antimicrobial resistance induced by genetic changes. *Journal of Medicine and Life*, 2 (2): 114-123: PMID: PMC3018982
9. Dibner, J.J. & Richards, J.D. (2005). Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode action. *Poultry Science*, 84 (4): 634-643: <https://doi.org/10.1093/ps/84.4.634>
10. EMA (European Medicines Agency). (2019). Κατηγοριοποίηση των αντιβιοτικών για χρήση σε ζώα, με στόχο τη συνειδητή και υπεύθυνη χρήση. Διατίθεται στο διαδίκτυο :

http://www.minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/ktiniatrika_Farmaka/EMA_antiviotika_zoa190620.pdf

11. Etebu, E. & Ariekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives, *International Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 4 (1): 9-101: https://www.researchgate.net/publication/319881509_Antibiotics_Classification_and_mechanisms_of_action_with_emphasis_on_molecular_perspectives Fernandez-Villa, D., Aguilar, M.R., Rojo, L. (2019). Folic Acid Antagonists: Antimicrobial and Immunomodulating Mechanisms and Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (20): 4996: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms20204996>
12. Gentry, A.C. & Osheroff, N. (2013). DNA Topoisomerases: Type II. In *Encyclopedia of Biological Chemistry*, 163-168: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378630-2.00246-2>
13. Harrison, F., Roberts, A.E.L., Gabriliska, R., Rumbaugh, K.P., Lee, C., Diggie, S.P. (2015). A 1,000-Year-Old Antimicrobial Remedy with Antistaphylococcal Activity. *mBIO*, 6 (4): 1-7: <https://doi.org/10.1128/mBio.01129-15>
14. Hernando-Amado, S., Coque, T.M., Baquero, F., Martinez, J.L. (2019). Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature Microbiology*, 4 (9): 1432–1442: <https://doi.org/10.1038/s41564-019-0503-9>
15. Hutchings, M.I., Truman, A.W., Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 51 (1): 72-80: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
16. Kumar, S., Mukherjee, M.M., Varela, M.F. (2013). Modulation of Bacterial Multidrug Resistance Efflux Pumps of the Major Facilitator Superfamily. *International Journal of Bacteriology*, 2013 (204141): 1-15: <https://dx.doi.org/10.1155%2F2013%2F204141>
17. Kuroda, T. & Tsuchiya, T. (2009). Multidrug efflux transporters in the MATE family. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics*, 1794 (5): 763-768: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2008.11.012>
18. Finley, R.L., Collignon, P., Larsson, D.G.J., McEwen, S.A., Li X.Z., Gaze, W.H., Reid-Smith, R., Timinouni, M., Graham, D.W., Topp, E. (2013). The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment. *Clinical Infectious Diseases*, 57 (5): 704-710: <https://doi.org/10.1093/cid/cit355>

- 19.** Larsson, D.G.J., Andremont, A., Bengtsson-Palme, J., Brandt, K.K., Husman, A.M.R, Fagerstedt, P., Fick, J., Flach, C.-F., Gaze, W.H., Kuroda, M., Kvint, K., Laxminarayan, R., Manaia, C.M., Nielsen, K.M., Plant, L., Ploy, M.-C., Segovia, C., Simonet, P., Wernersson, A.-S. (2018). Critical knowledge gaps and research needs related to the environmental dimensions of antibiotic resistance. *Environmental International*, 117 (1): 132-138: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.041>
- 20.** Li, J., Koh, J.-J., Liu, S., Lakshminarayanan, R., Verma, C.S., Beuerman, R.W. (2017). Membrane Active Antimicrobial Peptides: Translating Mechanistic Insights to Design. *Frontiers in Neuroscience*, 11 (73): 1-18 : <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00073>
- 21.** Mah, T.-F. (2012). Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7 (9): 1061-1072: <https://doi.org/10.2217/fmb.12.76>
- 22.** Martinez, J.L. (2014). *General principles of antibiotic resistance in bacteria*. *Grug Discovery Today: Technologies*, 11(1): 33-39 : <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2014.02.001>
- 23.** Munita, J.M. & Arias C.A. (2021). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4 (2) :<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>
- 24.** Naveed, M., Chaudhry, Z., Bukhari, S.A., Meer, B., Ashraf, H. (2020). Chapter 19- Antibiotics resistance mechanism. in the book *Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment*, 1: 292 – 312: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818882-8.00019-X>
- 25.** O'Neil, J., (2016), *Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations, The Review on Antimicrobial Resistance*, supported by the Wellcome Trust and UK Government : Available online (20/08/2021): https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
- 26.** Podolsky, S.H. (2018). The evolving response to antibiotic resistance (1945-2018). *Palgrave Communications*, 4 (124): 1-8: <https://www.nature.com/articles/s41599-018-0181-x>
- 27.** Redgrave, L.S., Sutton, S.B., Webber, M.A., Piddock, L.J.V. (2014). Fluoroquinolone resistance: mechanisms impact on bacteria, and role in evolutionary success. *Trends in Microbiology*, 22 (8): 438-445: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.04.007>

28. Reygaert, W.C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4 (3): 482-501: <https://dx.doi.org/10.3934%2Fmicrobiol.2018.3.482>

29. Robinson, T.P., Bu, D.P., Carrique-Mas, J., Fevre E.M., Gilbert, M., Grace, D., Hay, S.I., Jiwakanon, J., Kakkar, M., Kariuki, S., Laxminarayan, R., Lubroth, J., Magnusson, U., Ngoc, P.T., Boeckel, T.P.V., Woolhouse, M.E.J. (2016). Antibiotic resistance is the quintessential One Health Issue. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 110 (7): 377-380: <https://dx.doi.org/10.1093%2Ftrstmh%2Ftrw048>

30. Romaniuk, J.A.H. & Cegelski, L. (2015). Bacterial cell wall composition and the influence of antibiotics by cell-wall and whole-cell NMR. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 270 (1679): 1-12: <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0024>

31. Van, T. T. H., Yidana, Z., Smooker, P.M., Coloe, P.J. (2020). Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. *Resistance*, 20 (): 170-177: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.07.031>