



Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο

Μεταπτυχιακή Ειδίκευση Καθηγητών Θετικών Επιστημών

Διπλωματική Εργασία

Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Αιτίες, Κίνδυνοι και Αντιμετώπιση

Αμπαζόγλου Ευαγγελία-Δήμητρα

ΑΜ: 153303

Επιβλέπων καθηγητής: Θεοχάρης Αχιλλέας

Πάτρα, Μάιος 2023

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία της φοιτήτριας Αμπαζόγλο Ευαγγελία-Δήμητρα που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



Ανθεκτικότητα στα Αντιβιοτικά: Αιτίες, Κίνδυνοι και Αντιμετώπιση

Αμπαζόγλου Ευαγγελία-Δήμητρα

Επιτροπή Επίβλεψης Πτυχιακής / Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπων Καθηγητής

Θεοχάρης Αχιλλέας

Καθηγητής

Τμήμα Χημείας

Πανεπιστήμιο Πατρών

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής

Σκορίλας Ανδρέας

Καθηγητής

Τμήμα Βιολογίας

ΕΚΠΑ

Πάτρα, Μάιος 2023

«στον Μανόλη»

Περίληψη

Τα αντιβιοτικά είναι χρήσιμες ουσίες που ως σκοπό έχουν την εξάλειψη ή την παρεμπόδιση ανάπτυξης παθογόνων μικροοργανισμών. Τα αντιμικροβιακά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο των μολυσματικών νόσων. Ωστόσο, το φαινόμενο ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αποτελεί ένα αδιαμφισβήτητο πρόβλημα που επηρεάζει την παγκόσμια υγεία. Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες διαθέτουν ένα ευρύ φάσμα δράσης, με σκοπό να είναι αποτελεσματικοί έναντι στη παθογένεια. Προκειμένου να διευθετηθεί το φαινόμενο ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, η κατανόηση του μηχανισμού δράσης των αντιβιοτικών είναι σημαντική. Παράλληλα, οι μικροοργανισμοί διαθέτουν πολυάριθμους μηχανισμούς έναντι στα αντιβιοτικά. Οι αιτίες και οι μηχανισμοί που προωθούν την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι καίρια σημεία που πρέπει να μελετηθούν ώστε να περιοριστεί το φαινόμενο. Τις τελευταίες δεκαετίες, η επιστημονική κοινότητα επικεντρώνεται στην κατανόηση των μηχανισμών ανθεκτικότητας προκειμένου να δημιουργηθούν νέα φαρμακευτικά σκευάσματα ή να ενισχυθούν τα ήδη υπάρχοντα αντιβιοτικά. Η ανάγκη αντιμετώπισης του φαινομένου ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι επιτακτική, καθώς έχει επιπτώσεις τόσο στην ατομική υγεία όσο και στην ιατρική περίθαλψη σε δομές υγείας. Επίσης, οι οικονομικοί κίνδυνοι που ελλοχεύουν λόγω της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι πολυάριθμοι και επηρεάζουν ένα ευρύ φάσμα κατηγοριών. Κάποιοι από τους σύγχρονους τρόπους αντιμετώπισης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι οι φραγμοί ανθεκτικότητας, η χρήση ανοσοενισχυτών, η βελτίωση χρήση των ήδη υπάρχοντων αντιβιοτικών, ο εμβολιασμός, η θεραπεία με βακτηριοφάγους, η χρήση της νανοτεχνολογίας μέσω νανομεταφορέων και η χρήση της βιοτεχνολογίας με την τεχνική του Crispr/Cas9. Ωστόσο, το πρόβλημα της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά απέχει πολύ από την αποτελεσματική αντιμετώπισή του.

Λέξεις – Κλειδιά

Αντιβιοτικά, Ανθεκτικότητα, Αιτίες, Κίνδυνοι, Αντιμετώπιση

Resistance to antibiotics: Causes, risks and overcoming approaches.

Ampazoglou Evangelia-Dimitra

Abstract

Antibiotics are useful compounds that may act against pathogenic microorganisms by eliminating them or by preventing their growth. Thus, antimicrobials play a critical role in preventing pathogenesis. However, the occurrence of antibiotic resistance is a undeniable problem, affecting the global health. Antimicrobial agents display a broad spectrum of activity in order to effectively eliminate pathogens. Understanding the mechanisms of action for antimicrobials is crucial in addressing the antibiotic resistance problem. At the same time, microorganisms use distinct methods to overcome the effectivity of antibiotics. Comprehending the mechanisms and causes of resistance are key points to limit the antibiotic resistance phenomenon. In the last decades, scientific community has been focusing on understanding resistance mechanisms to create new drugs or enhance existing antibiotics. The need to address antibiotic resistance is imperative, as it displays implications for both individual health and medical care. Also, the economic risks are numerous and affect a wide range of human community. Some of the current ways in battling antimicrobial resistance are antibiotic resistance breakers, antibiotic adjuvants, optimizing antibiotic therapies, vaccination, phage therapy, nanotechnology via nanoparticles and biotechnology via Crispr/cas9 method. Nevertheless, antibiotic resistance studies addressing the issue are still limited.

Keywords

Antibiotics, Resistance, Causes, Risks, Overcoming approaches.

Περιεχόμενα

Περίληψη	v
Abstract	vi
Περιεχόμενα	vii
Κατάλογος Εικόνων	viii
1. Εισαγωγή	1
1.1 Αντιβιοτικά	1
1.2 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά	7
2. Μηχανισμοί δράσης των αντιμικροβιακών	10
3. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: μηχανισμοί	12
3.1 Ενδογενής ανθεκτικότητα	12
3.2 Επίκτητη ανθεκτικότητα	15
3.2.1 Γενετικοί μηχανισμοί μεταφοράς	16
3.2.2. Μεταθετά γενετικά στοιχεία (MGEs)	17
3.3 Ανθεκτικότητα μέσω μεταλλάξεων	18
3.4 Ανθεκτικότητα μέσω δημιουργίας βιοφίλμ	19
4. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Αιτίες	21
5. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι	25
5.1 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι για τους ασθενείς	25
5.2 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι στην Ιατρική Περίθαλψη	26
5.3 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Οικονομικοί Κίνδυνοι	27
6. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Αντιμετώπιση	29
6.1 Η αρχή της Ενιαίας Υγείας	29
6.2 Αντιμετώπιση μέσω φραγμών ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά	31
6.3 Αντιμετώπιση μέσω αντιβιοτικών ανοσοενισχυτών	33
6.4 Βελτίωση χρήσης των ήδη υπάρχοντων αντιβιοτικών	36
6.5 Εμβολιασμός	38
6.6 Θεραπεία με βακτηριοφάγους	39
6.7 Χρήση Νανοτεχνολογίας	40
6.6.1 Νανομεταφορείς με βάση τα λιπίδια	41
6.6.2 Νανομεταφορείς με βάση πολυμερή	42
6.6.3 Νανοσωματίδια με μέταλλα	43
6.6.4 Νανοσωματίδια με άνθρακα	44
6.7 Γενετικές μέθοδοι βασισμένες στην τεχνολογία του CRISPR	45
7. Συμπεράσματα	49
8. Βιβλιογραφία	51

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1 Σχηματική απεικόνιση της ιστορίας των αντιβιοτικών	2
Εικόνα 2 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών	4
Εικόνα 3 Αιτίες εμφάνισης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά περιληπτικά	6
Εικόνα 4 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών στο βακτηριακό κύτταρο	9
Εικόνα 5 Ενδογενής ανθεκτικότητα	12
Εικόνα 6 Γενετικοί Μηχανισμοί Μεταφορά (1) Σύζευξη (2) Μετασηματισμός (3) Μεταγωγή	14
Εικόνα 7 Μεταθετά Γενετικά Στοιχεία (MGEs)	15
Εικόνα 8 Αιτίες εμφάνισης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά με βάση των Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO)	21
Εικόνα 9 Διάφοροι παράγοντες Ανθεκτικότητας στα Αντιβιοτικά και η πιθανή πορεία τους προς τον άνθρωπο	21
Εικόνα 10 Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών δράσεων των ανοσοενισχυτών και των φραγμών έναντι της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. (Α) Αναστολέας της υδρολάσης/ τροποποιητικού ενζύμου των αντιβιοτικών (1) στόχοι αντιβιοτικών (2). (Β) Ενίσχυση της ενδοκυτταρικής διέλευσης των αντιβιοτικών μέσω αναστολέων αντλιών εκροής (1), Διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης (2) καταστροφή του βιοφίλμ (3) (Δ) Αναστολή των οδών σηματοδότησης και ρύθμισης που προάγουν την ανθεκτικότητα (Ε) Ενίσχυση της άμυνας του ξενιστή μέσω ενεργοποίησης των ανοσοποιητικών κυττάρων	30
Εικόνα 11 Το σύνολο δράσης των ανοσοενισχυτών	30
Εικόνα 12 Κατηγορίες νανοσωματιδίων	39
Εικόνα 13 Μηχανισμοί δράσης νανοσωματιδίων	39
Εικόνα 14 Εφαρμογές της τεχνολογίας CRISPR/Cas στην ιατρική	42
Εικόνα 15 Μηχανισμοί δράσης τεχνολογίας CRISPR	42
Εικόνα 16 Εφαρμογές συστημάτων CRISPR αντι-ανθεκτικότητας στην ιατρική και στο περιβάλλον	43

1. Εισαγωγή

Η ανακάλυψη των αντιβιοτικών θεωρείται μία από τις πιο σημαντικές ανακαλύψεις της ιατρικής επιστήμης κατά τον 20ο αιώνα. Τα αντιβιοτικά είναι χρήσιμες ενώσεις που σκοπό έχουν να μειώσουν ή να σταματήσουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Επίσης, τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται ως μέρος των φαρμάκων που δίνονται για την θεραπεία πολύπλοκων ασθενειών, όπως είναι ο καρκίνος ή κατά τις χειρουργικές επεμβάσεις, με σκοπό να αποτρέψουν λοιμώξεις. Ωστόσο, λόγω της συνεχόμενης χρήσης των αντιβιοτικών, εμφανίστηκαν ανθεκτικά στα αντιβιοτικά μικρόβια. Αυτά γίνονται ανθεκτικά στα αντιβιοτικά με μεταλλάξεις που καταφέρνουν την αλλαγή του στόχου του φαρμάκου, την αποτροπή εισόδου στα κύτταρα, την εξάλειψη του φαρμάκου μέσω αντλιών εκροής ή απλά την απενεργοποίηση των φαρμάκων. Η συστηματική αύξηση των ποσοστών της ανθεκτικότητας των μικροβίων στα αντιβιοτικά αποτελεί πλέον τεράστια απειλή για την δημόσια υγεία. Τουλάχιστον δύο εκατομμύρια άνθρωποι τον χρόνο νοσούν από ανθεκτικά στελέχη μικροβίων και οι τριανταπέντε χιλιάδες από αυτούς πεθαίνουν. Έτσι, είναι επιτακτική η ανάγκη να αντιμετωπιστεί το φαινόμενο αυτό, με την ανακάλυψη εναλλακτικών λύσεων. Η χρήση ανοσοενισχυτικών αντιβιοτικών αποτελεί μία συμπληρωματική στρατηγική για την ενίσχυση των ήδη υπάρχοντων αντιβιοτικών. Επίσης, τεχνικές όπως ο συνδυασμός θεραπειών, η θεραπεία μέσω βακτηριοφάγων και η χρήση της νανοτεχνολογίας, αποτελούν εναλλακτικούς θεραπευτικούς τρόπους.

1.1 Αντιβιοτικά

Με τον όρο αντιβιοτικά, αναφερόμαστε σε φυσικά παραγόμενες ουσίες, που προέρχονται από διάφορους μικροοργανισμούς, όπως για παράδειγμα από βακτήρια ή από μύκητες. Οι ουσίες αυτές, έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών καθώς και να καταστρέφουν τα κύτταρά τους. Καθώς όμως κατά την μοντέρνα εποχή παράγονται ημισυνθετικά προϊόντα, ο όρος αυτός άλλαξε και πλέον αναφερόμαστε σε αντιμικροβιακά. Τα αντιμικροβιακά αναφέρονται σε φυσικές, ημισυνθετικές αλλά και συνθετικές ουσίες, που έχουν την δυνατότητα να αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών και άρα να οδηγούν τα κύτταρα σε απόπτωση. Επομένως, τα σκευάσματα που είναι χημειοθεραπευτικά, δρουν έναντι σε βακτήρια και παράγονται από ζωντανούς

οργανισμούς αποκαλούνται αντιβιοτικά, ενώ τα σκευάσματα που παράγονται τεχνητά σε εργαστήριο ονομάζονται αντιμικροβιακά.¹

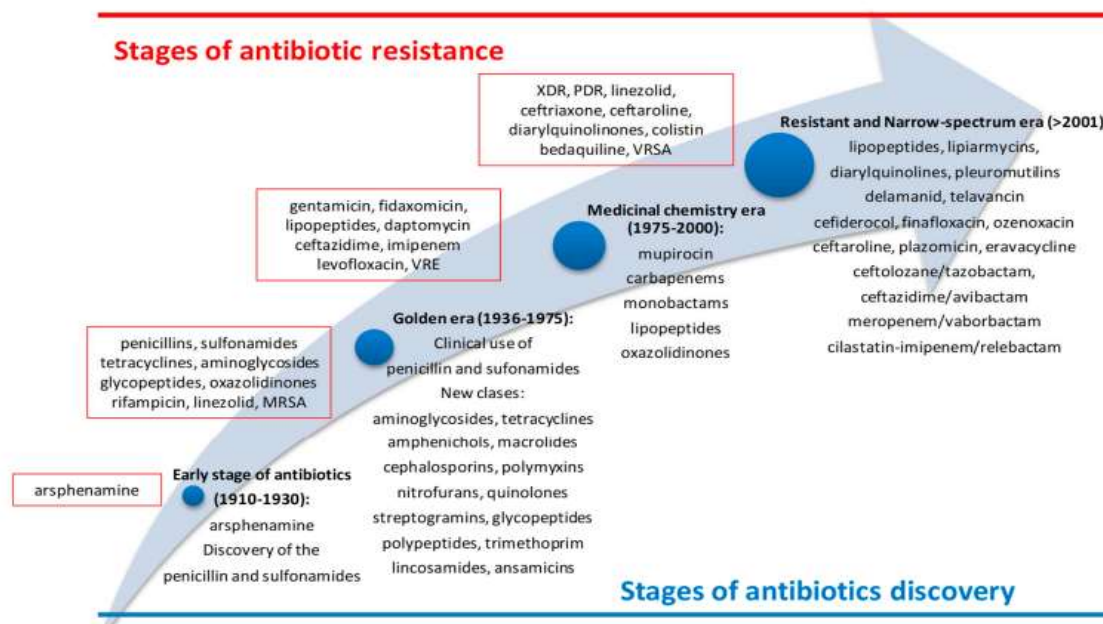
Είναι σκόπιμο να αναφερθεί, ότι τα αντιμικροβιακά στην εποχή μας χρησιμοποιούνται όχι μόνο στην επιστήμη της ιατρικής αλλά και σε άλλους τομείς της ζωής του ανθρώπου, όπως είναι η γεωργία, η κτηνοτροφία, η ιχθυοκαλλιέργεια καθώς και ως ενισχυτές ανάπτυξης.¹

Ιστορική αναδρομή

Το πρώτο αντιβιοτικό αναπτύχθηκε το 1910. Μέσα σε λιγότερο από 100 χρόνια, τα αντιβιοτικά κατάφεραν να αλλάξουν δραστικά την ιατρική αλλά και να αυξήσουν το προσδόκιμο ζωής του ανθρώπου κατά 23 χρόνια.² Με την θεραπεία των αντιβιοτικών, η ιατρική κοινότητα κατάφερε να θεραπεύσει ασθενείς που υπέφεραν από προηγουμένως θανατηφόρες ασθένειες.³

Δεδομένα από χρήση ‘αντιβιοτικών’ εντοπίζουμε σε χώρες όπως την Σερβία, την Κίνα, την Ελλάδα και την Αίγυπτο ήδη πριν από 2000 χρόνια. Ωστόσο, η ανάπτυξη των αντιμολυσματικών σκευασμάτων με υποβόσκουσα τη δράση της χημειοθεραπείας, οφείλεται στον Paul Ehrlich, που ήταν ο πρώτος που κατασκεύασε την σαλβαρσάνη για την θεραπεία της σύφιλης, το 1910.² Η ανακάλυψη της πενικιλίνης, το 1928, σηματοδότησε την ‘χρυσή εποχή’ των αντιβιοτικών. Έπειτα από την χρυσή εποχή των αντιβιοτικών, που διήρκησε περίπου 20 χρόνια, η ανακάλυψη καινούριων αντιβιοτικών άρχισε να φθύνει, ενώ η εξέλιξη ανθεκτικότητας σε διάφορους παθογόνους οργανισμούς για τον άνθρωπο, οδήγησε στην κρίση της ανθεκτικότητας σε αντιμικροβιακά.² (Εικόνα 1)

Είναι σκόπιμο να αναφερθεί ότι παρόλο που τα αντιβιοτικά ανακαλύφθηκαν επίσημα στις αρχές του 20ου αιώνα, η χρήση ορισμένων μικροοργανισμών για την πρόληψη ασθενειών ή για την αποτροπή επιπλοκών έχει ξεκινήσει χιλιετίες νωρίτερα. Υπάρχουν αναφορές για την χρήση καταπλασμάτων μουχλιασμένου ψωμιού από την 2η χιλιετία π.Χ στις περιοχές της Σερβίας, της Κίνας, της Ελλάδας και της Αιγύπτου. Στον πάπυρο του Eber, το πιο παλιό και καλά διατηρημένο ιατρικό έγγραφο, αναφέρεται το μουχλιασμένο ψωμί και το χόμα ως προσθήκες στον κατάλογο των θεραπειών. Στις μεσαιωνικές κοινωνίες, χρησιμοποιήθηκαν διάφορες φυσικές ουσίες ως μία πιθανή πηγή αντιμετώπισης των μικροβιακών λοιμώξεων.²



Εικόνα 2 Σχηματική απεικόνιση της ιστορίας των αντιβιοτικών

Ταξινόμηση αντιβιοτικών

Τα αντιβιοτικά κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τις μοριακές τους δομές, τον τρόπο που λειτουργούν, τον τρόπο χορήγησής τους καθώς και το φάσμα δραστηριότητάς τους. Οι πιο γνωστές τάξεις των αντιβιοτικών είναι οι Β-λακτάμες, οι μακρολίδες, οι τετρακυκλίνες, οι κινολόνες και οι αμυνογλυκοσίδες, με βάση την χημική ή την μοριακή δομή τους.⁴

Σύμφωνα με το φάσμα δράσης τους, τα αντιβιοτικά ταξινομούνται σε 2 υποκατηγορίες.

Τα αντιβιοτικά στενού φάσματος είναι ουσίες που στοχεύουν σε ένα επιλεγμένο τύπο βακτηρίων και μικροοργανισμών. Τα αντιβιοτικά στενού φάσματος χρησιμοποιούνται σε μολύνσεις όπου ο παθογόνος μικροοργανισμός έχει ταυτοποιηθεί και με αυτόν τον τρόπο, το αντιβιοτικό που επιλέγεται συνήθως δεν επηρεάζει το σύνολο των μικροοργανισμών που φιλοξενούνται στο σώμα. Για παράδειγμα η πενικιλίνη είναι χρήσιμη κυρίως κατά των Gram (+) βακτηρίων ενώ η στρεπτομυκίνη έχει ισχυρή δράση κυρίως κατά των Gram (-) αρνητικών μικροοργανισμών.⁴

Ο όρος Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος χρησιμοποιείται για να χαρακτηρίσει αντιμικροβιακά φάρμακα που είναι αποτελεσματικά έναντι σε Gram (+) αλλά και κατά Gram (-) 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. ⁴

Σύμφωνα με τον τρόπο δράσης τους, τα αντιβιοτικά κατηγοριοποιούνται σε περισσότερες κατηγορίες.

Οι Β-λακτάμες αποτελούν τα αντιβιοτικά που χρήζουν της μεγαλύτερης συνταγογράφησης από όλες τις ομάδες των αντιβιοτικών. Τα πιο γνωστά μέλη της κατηγορίας αυτής είναι οι πενικιλλίνες και οι κεφαλοσπορίνες. Το κοινό χαρακτηριστικό όλων των β-λακταμών αποτελεί ο δακτύλιος β-λακτάμης που έχουν στην δομή τους. Ο δακτύλιος αυτός μπορεί και επεμβαίνει στην σύνθεση της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων με αποτέλεσμα να αναστέλλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. ⁴

Από την κατηγορία των Μακρολιδών, οι πιο γνωστές είναι η ερυθρομυκίνη, η αζιθρομυκίνη και η κλαριθρομυκίνη. Οι μακρολίδες, έχουν την ικανότητα να προσδένονται αναστρέψιμα στο 23S rRNA των βακτηρίων, με αποτέλεσμα να αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεσή τους, καθώς ανακόπτουν την επιμήκυνσή τους. ⁴

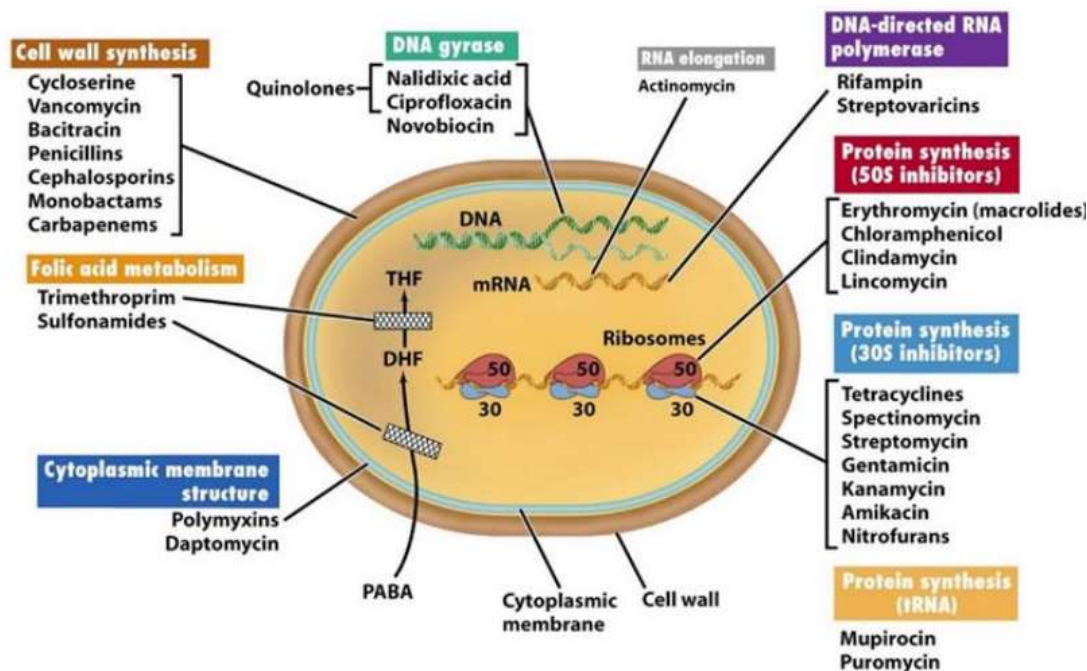
Οι τετρακυκλίνες μπορούν να υποδιαιρεθούν σε γενιές (1^η μέχρι 3^η) ανάλογα με την μέθοδο σύνθεσής τους. Οι τρεις αυτές τάξεις των αντιβιοτικών δρουν με στόχο το βακτηριακό ριβόσωμα, διασπώντας αμινοξέα από τις πολυπεπτιδικές αλυσίδες κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. ⁴

Οι πιο γνωστές κινολόνες είναι η νορφλοξασίνη, η οφλοξασίνη, η σιπροφλοξασίνη και η σινοξασίνη. Οι κινολόνες είναι μία τάξη αντιβιοτικών που δρουν με την εμπλοκή τους στην αντιγραφή και μεταγραφή του DNA στα βακτήρια. ⁴

Τέλος, από τις αμινογλυκοσίδες, το πιο γνωστό αντιβιοτικό είναι η στρεπτομυκίνη που ήταν και το πρώτο αντιβιοτικό από την ομάδα αυτή που ανακαλύφθηκε το 1943. Οι αμινογλυκοσίδες μπορούν να προσδένονται στις ριβοσωμικές υπομονάδες και να αναστέλλουν έτσι την πρωτεϊνοσύνθεση στα βακτήρια. ⁴

Τα αντιβιοτικά θεωρούνται αποτελεσματικά όταν μπορούν να σκοτώνουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς. Οι μηχανισμοί της δράσης των αντιβιοτικών είναι η αναστολή της σύνθεσης των κυτταρικών τοιχωμάτων, η καταστροφή της κυτταρικής μεμβράνης, η διαταραχή της δράσης και της δομής των νουκλεϊκών οξέων, η αναστολή της σύνθεσης

πρωτεϊνών καθώς και η εμπλοκή τους σε μεταβολομικά μονοπάτια που είναι κρίσιμα για την επιβίωση των κυττάρων. (εικόνα 2) ⁴



Εικόνα 3 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών

Κατηγοριοποίηση AWaRe

Μια ακόμα, διαφορετική και ειδικότερη κατηγοριοποίηση των αντιβιοτικών έχει γίνει από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας σε μία προσπάθεια ελέγχου της συνεχώς αυξανόμενης ανθεκτικότητας. Πιο συγκεκριμένα, το 2017 συγκροτήθηκε μία ειδική ομάδα επιστημόνων από τον Π.Ο.Υ. προκειμένου να ερευνήσουν είκοσι ένα μεταδοτικές ασθένειες, καταλήγοντας στις κατάλληλες φαρμακευτικές επιλογές πρώτης και δεύτερης επιλογής για καθεμία περίπτωση, κατατάσσοντας τα αντιβιοτικά σε τρεις κατηγορίες. Με τον τρόπο αυτό ταξινομήθηκαν τριάντα επτά αντιβιοτικά που θεωρούνται απαραίτητα για την αντιμετώπιση σοβαρών μολύνσεων, σε τρεις ευρύτερες ομάδες με βάση την πιθανότητα εμφάνισης ανθεκτικότητας των εκάστοτε παθογόνων σε αυτά. Την πρώτη κατηγορία τη συνιστούν τα αντιβιοτικά που χαρακτηρίζονται ως “Access”. Τα αντιβιοτικά αυτά εμφανίζουν κατάλληλη θεραπευτική αξία και μειωμένη πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Ο Π.Ο.Υ. μάλιστα συνέστησε τα αντιβιοτικά στην ομάδα αυτή να διατίθενται ως θεραπεία για πολλούς τύπους κοινών λοιμώξεων και να είναι οικονομικά προσιτά. ⁴³

Τη δεύτερη ομάδα, αποτελούν τα αντιβιοτικά ‘Watch’, στην οποία κατατάχθηκαν τα αντιβιοτικά που θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε ορισμένες επιλεκτικές περιπτώσεις. Τα αντιβιοτικά αυτά είναι επιρρεπή στην εμφάνιση ανθεκτικότητας και επομένως όταν χορηγούνται θα πρέπει να συνοδεύονται από αυστηρό πρωτόκολλο ελέγχου και παρακολούθησης για τυχόν εμφάνιση αντίστασης των παθογόνων.⁴³

Τέλος, στην τρίτη ομάδα ‘Reserve’ ανήκουν τα αντιβιοτικά που θα πρέπει να αποτελούν την ύστατη επιλογή θεραπείας και να δίνονται μόνο σε περιπτώσεις που τίθεται κίνδυνος για την ζωή του ασθενή. Συνήθως, τα αντιβιοτικά αυτά δίνονται σε περιπτώσεις πολυσύνθετης μολυσματικής ασθένειας και αφού έχουν εξαντληθεί οι διαθέσιμες εναλλακτικές λύσεις.⁴³

Για κάθε αντιβιοτικό στο Σύστημα Ταξινόμησης Access, Watch, Reserve (AWaRe), ο Π.Ο.Υ. συνέστησε τη χρήση του είτε ως πρώτης είτε ως δεύτερης επιλογής θεραπεία για πολλές κοινές ή/και σοβαρές λοιμώξεις ώστε να διασφαλιστεί ότι επιλέγεται το σωστό κάθε φορά αντιβιοτικό για κάθε μόλυνση. Το 2019 σε αυτά τα 37 αντιβιοτικά προστέθηκαν ακόμη 180 αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως και έτσι δημιουργήθηκε μια βάση δεδομένων για τα αντιβιοτικά στην οποία ακολουθούνται οι κανόνες ταξινόμησης AWaRe. Είναι σημαντικό να διευκρινιστεί ότι ο στόχος δεν είναι να αποφευχθεί πλήρως η χρήση των αντιβιοτικών στις ομάδες Watch και Reserve, αλλά να περιοριστεί η χρήση τους σε συγκεκριμένες καταστάσεις. Με τη μη υπερβολική χρήση αυτών των αντιβιοτικών σε καταστάσεις για τις οποίες έχουμε άλλες επιλογές (από την ομάδα Access), τα διατηρούμε αποτελεσματικά για καταστάσεις που πραγματικά είναι απαραίτητα. Επιπλέον επισημαίνεται ότι η ταξινόμηση στις τρεις κατηγορίες έγινε βάσει της ανθεκτικότητας που εμφανίζουν τα παθογόνα και κατ’ επέκταση σύμφωνα με την ανάγκη παρακολούθησης και περιορισμού της χρήσης ορισμένων αντιβιοτικών. Από άποψη κλινικής αποτελεσματικότητας, ωστόσο, τα αντιβιοτικά στη κατηγορία Access σε καμία περίπτωση δεν υστερούν από αυτά της ομάδας Reverse. Κάθε ομάδα (Access, Watch & Reserve) περιλαμβάνει αντιβιοτικά πρώτης και δεύτερης επιλογής. Η διάκριση αυτή έγινε με βάση την αποτελεσματικότητα τους και την πιθανή ανθεκτικότητα που θα εμφανίσουν τα παθογόνα λόγω της χρήσης τους. Τα αντιβιοτικά πρώτης επιλογής, λοιπόν, είναι τα βέλτιστα στο μέτρο αποτελεσματικότητας και πιθανής πρόκλησης ανθεκτικότητας, ωστόσο ορισμένες φορές τα αντιβιοτικά δεύτερης επιλογής είναι απαραίτητα και τότε θα πρέπει να

χορηγούνται υπό συγκεκριμένες συνθήκες καθώς συνήθως πρόκειται για αντιβιοτικά ευρέως φάσματος με υψηλότερο κίνδυνο πρόκλησης ανθεκτικότητας.⁴⁴

Η βάση δεδομένων αντιβιοτικών του συστήματος AWaRe αποτελεί ουσιαστικά ένα εργαλείο που ο Π.Ο.Υ. παρέχει στα κράτη ώστε να διαμορφώσουν τα θεραπευτικά τους πρωτόκολλα σε συνάρτηση με τους δείκτες της ολοένα και αυξανόμενης μικροβιακής αντοχής. Για τον λόγο αυτό, ο Π.Ο.Υ. έχει θέσει ως στόχο τα αντιβιοτικά από την κατηγορία Access να αποτελούν το 60% της εθνικής κατανάλωσης αντιβιοτικών κάθε χώρας μέχρι το 2023, ποσοστό που μπορεί να επιτευχθεί αν δοθεί προτεραιότητα στα αντιβιοτικά της συγκεκριμένης κατηγορίας στα εθνικά προγράμματα συνταγογράφησης. Αναγνωρίζοντας τον καταλυτικό ρόλο των ομάδων AWaRe για τη διαχείριση και την βελτίωση των προγραμμάτων αντιμετώπισης της AMR, η κατηγοριοποίηση AWaRe υιοθετήθηκε γρήγορα από πολλά κράτη μέλη του Π.Ο.Υ. και έλαβε επίσημη έγκριση από τους υπουργούς Υγείας των χωρών της Επιτροπής G20 το 2018.⁴⁵

1.2 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

Η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά εμφανίζεται όταν μικροοργανισμοί, όπως τα βακτήρια, οι ιοί, οι μύκητες και τα παράσιτα μπορούν να προσαρμοστούν και να αναπτυχθούν παρουσία θεραπειών που άλλοτε τα επηρέαζαν.⁵

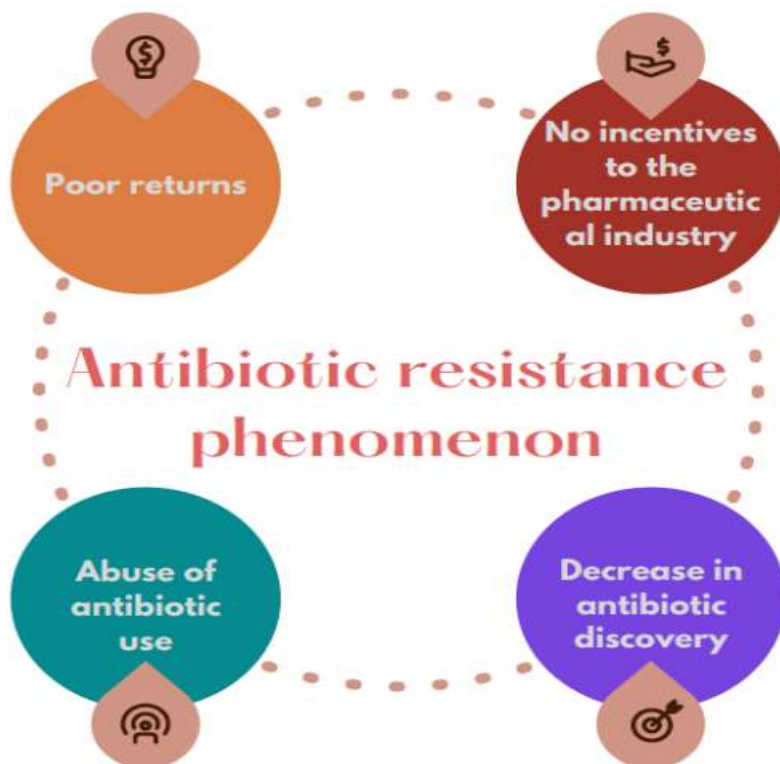
Το 1943 η επίκτητη ανθεκτικότητα του γένους *Staphylococcus* στην πενικιλίνη ταυτοποιήθηκε πριν καν ακόμα το αντιβιοτικό παραχθεί παγκόσμια. Η εξέλιξη αυτή, τόνισε στην τότε επιστημονική κοινότητα ότι τα βακτήρια αυτά πιθανότατα χαρακτηρίζονται από μια εγγενή προδιάθεση για ανθεκτικότητα στο γονιδίωμά τους. Επομένως, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά όσον αφορά τα βακτήρια είναι μία φυσική διαδικασία που μπορεί να συμβεί ανεξαρτήτως του ανθρώπινου παράγοντα. Ωστόσο, μετά την εισαγωγή της πενικιλίνης ως τρόπο αντιμετώπισης των βακτηρίων, το φαινόμενο αυτό αυξήθηκε δραματικά.³

Η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά θεωρείται μία σημαντική απειλή στα δημόσια συστήματα υγείας, όχι μόνο σε αναπτυσσόμενες χώρες αλλά παγκοσμίως. Το γεγονός ότι μολυσματικές ασθένειες δεν μπορούν πια να αντιμετωπιστούν με αντιβιοτικά, αποτελεί κακό οιωνό για το μέλλον της δημόσιας υγείας. Η μόλυνση με μικρόβιο ανθεκτικό στα αντιμικροβιακά, οδηγεί σε βαριές ασθένειες, παρατεταμένες νοσηλείες, αυξημένα κόστη

φροντίδας, αυξημένα κόστη σε φάρμακα δεύτερης γενιάς καθώς και σε αποτυχημένες θεραπείες. Μόνο στην Ευρώπη, εκτιμάται ότι η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά στοιχίζει παραπάνω από 9 δισεκατομμύρια τον χρόνο, ενώ σύμφωνα με το Centers for Disease Control and Prevention, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά προσθέτει 20 δισεκατομμύρια στον προϋπολογισμό των Ηνωμένων Πολιτειών.⁵

Την μεγαλύτερη απειλή σχετικά με την ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά, αποτελεί η κατηγορία της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά των βακτηρίων. Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά μειώνει την ικανότητα του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος να καταπολεμά μολυσματικές ασθένειες και αποτελεί τεράστια απειλή για ασθενείς με χρόνια νοσήματα.⁵

Το βασικό ερώτημα σχετικά με την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί ο λόγος για τον οποίο το φαινόμενο αυτό συμβαίνει σχεδόν ανεξέλεγκτα. Η αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών, αποτελεί έναν καθοριστικό παράγοντα για την εξέλιξη του φαινομένου αυτού σε παγκόσμιο πρόβλημα. Επίσης, η φτωχή παραγωγή εξελιγμένων ή νέων αντιβιοτικών καθώς και η μειωμένη έρευνα σχετικά με καινούρια αντιβιοτικά είναι δύο ακόμα λόγοι που η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά έχει γίνει ανεξέλεγκτη. Τέλος, η απουσία κινήτρων για τις φαρμακευτικές εταιρείες, τις έχουν κάνει να μην ασχολούνται με την παραγωγή και την εύρεση νέων σκευασμάτων, καθώς τα κόστη είναι μεγαλύτερα από τα κέρδη. (εικόνα 3)³



Εικόνα 4 Αιτίες εμφάνισης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά περιληπτικά

Για να τεθεί το φαινόμενο της ανθεκτικότητας υπό έλεγχο, θα πρέπει να υπάρχει ταυτόχρονη αντιμετώπιση από την επιστημονική κοινότητα και τα νοσοκομειακά συστήματα. Είναι κρίσιμο να κατανοηθούν πλήρως οι μηχανισμοί που οδηγούν σε ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά και να μελετηθούν οι υπάρχουσες λύσεις σχετικά με το πρόβλημα αυτό.³

2. Μηχανισμοί δράσης των αντιμικροβιακών

Η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά, αποτελεί ένα από τα πιο σοβαρά θέματα παγκόσμιας υγείας για τον 21^ο αιώνα. Η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά αφορά τόσο στους ανθρώπους, όσο στα ζώα αλλά και στο περιβάλλον. ⁶

Τα αντιμικροβιακά αντιπροσωπεύουν ένα μεγάλο φάσμα ενώσεων, που μπορούν και δρουν έναντι παθογόνων μικροοργανισμών, όπως είναι τα βακτήρια, οι ιοί, τα παράσιτα, οι μύκητες και τα πρωτόζωα. Οι ενώσεις αυτές άρχισαν να χρησιμοποιούνται ευρέως από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, μειώνοντας την θνησιμότητα και την νοσηρότητα των μολυσματικών ασθενειών. ⁷

Λίγα χρόνια μόνο μετά την χρήση των πρώτων αντιβιοτικών, παρατηρήθηκε το φαινόμενο της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Το φαινόμενο αυτό σταδιακά μετατράπηκε σε παγκόσμια απειλή της δημόσιας υγείας. Για να κατανοήσουμε όμως πλήρως τους μηχανισμούς της ανθεκτικότητας, είναι ζωτικής σημασίας να αντιληφθούμε αποτελεσματικά τους τρόπους δράσης των αντιμικροβιακών. Κάθε τάξη αντιμικροβιακών, λειτουργεί με συγκεκριμένο τρόπο έναντι στους μικροοργανισμούς. Οι τρόποι δράσης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν: ⁸

1. Παρεμβαίνοντας στην σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος

Το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα είναι ένα ελαστικό μακρομόριο, που είναι πολύ σημαντικό για τη διατήρηση του σχήματος του βακτηρίου αλλά και για την προστασία του βακτηρίου από την ενδοκυτταρική ωσμωτική πίεση. Η πεπτιδογλυκάνη αποτελεί το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος.

Τα αντιβακτηριακά φάρμακα που αναστέλλουν την σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος, είναι οι β-λακτάμες και τα γλυκοπεπτίδια. ⁸

2. Αναστέλλοντας την πρωτεϊνοσύνθεση

Η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μία περίπλοκη και ζωτικής σημασίας βιολογική διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα συνθέτουν εξειδικευμένες πρωτεΐνες. Η σύνθεση των πρωτεϊνών συμπεριλαμβάνει τις διαδικασίες της μεταγραφής και της μετάφρασης που χαρακτηρίζονται από τέσσερα βασικά βήματα: την έναρξη, την επιμήκυνση, την λήξη και την ανακύκλωση των διαδικασιών.

Τα αντιβιοτικά που αναστέλλουν την πρωτεϊνοσύνθεση στα βακτήρια, βασίζονται στις δομικές διαφορές του προκαρυωτικού και του ευκαρυωτικού ριβοσώματος.

Έτσι, τα αντιβιοτικά αυτά μπορούν εξειδικευμένα να αναστέλλουν την βακτηριακή ανάπτυξη. Η δράση των αντιβιοτικών επικεντρώνεται στην παρεμπόδιση της διαδικασίας στην 30S ή 50S υπομονάδα του 70S βακτηριακού ριβοσώματος, ώστε να παρεμποδίσουν την πρωτεϊνσύνθεση. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα να σταματήσει ή να επιβραδυνθεί η ανάπτυξη των κυττάρων.

Αντιβιοτικά που παρεμποδίζουν την σύνθεση πρωτεϊνών είναι οι μακρολίδες, οι αμινογλυκοσίδες, οι τετρακυκλίνες (30S) και η χλωραμφενικόλη (50S).⁸

3. Παρεμποδίζοντας την σύνθεση νουκλεϊκών οξέων

Η σύνθεση του βακτηριακού DNA χρειάζεται μία ομάδα ενζύμων που ονομάζονται τοποϊσομεράσες. Η απουσία αυτών των ενζύμων μπορεί να επηρεάσει την υπερελίκωση του DNA και άρα να επηρεάσει την τελική μορφή του DNA.

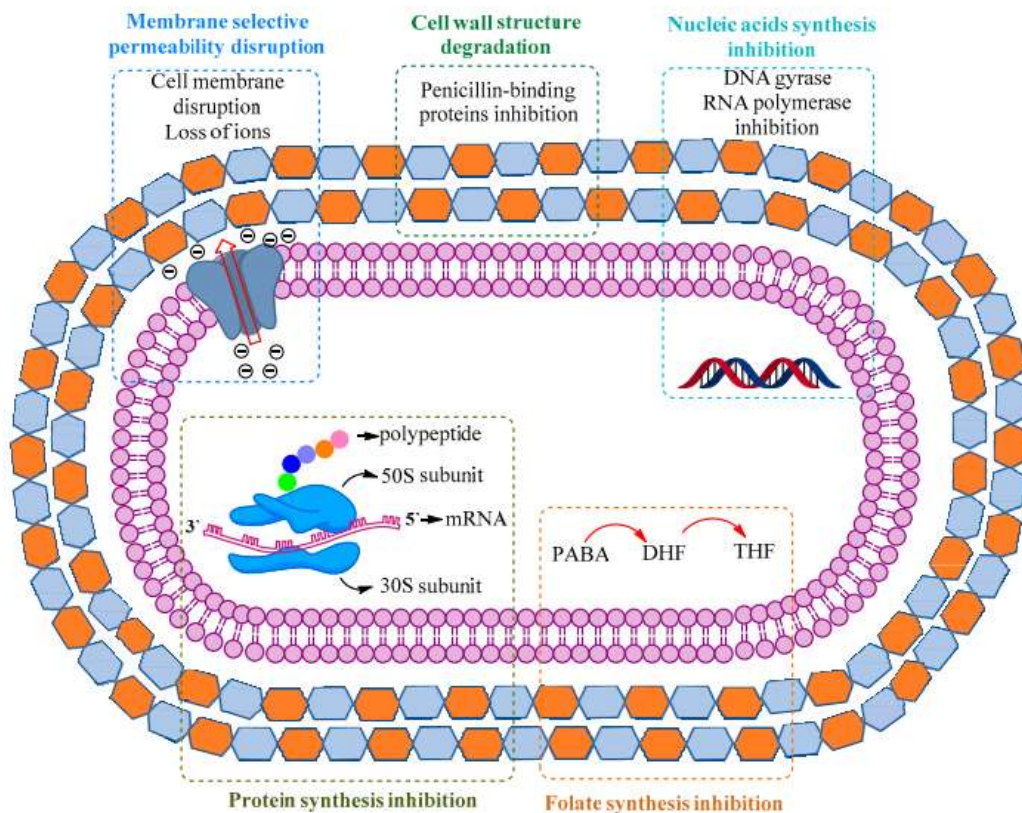
Οι φθοροκινολόνες είναι αντιβιοτικά ευρέως φάσματος που χρησιμοποιούνται ενάντια σε gram θετικά και αρνητικά βακτήρια καθώς και σε αναερόβια βακτήρια. Η δράση τους έγκειται στην αναστολή του ενζύμου DNA γυράση στα βακτήρια, που αποτελεί ένζυμο της ομάδας των τοποϊσομερασών. Τα αντιβιοτικά της κινολόνης δρουν αλλάζοντας την υπερελίκωση του DNA καθώς προσδέονται στην τοποϊσομεράση IV/II. Η πρόσδεση αυτή οδηγεί σε ρήξη της διπλής έλικας του DNA και άρα σε κυτταρικό θάνατο.⁸

4. Αναστολή μεταβολικών οδών/βακτηριακών ενζύμων

Τα ευκαρυωτικά και προκαρυωτικά κύτταρα, προκειμένου να συνθέσουν κυτταρικά συστατικά, χρειάζονται συμπράγοντες φολικού οξέος. Σε πολλές βιοσυνθετικές διαδικασίες είναι απαραίτητο το τετραυδροφολικό οξύ ως δότης ενός ατόμου άνθρακα και κάποιες αποικοδομητικές διαδικασίες χρειάζονται τετραυδροφολικό οξύ ως δέκτη ενός ατόμου άνθρακα. Το γεγονός ότι τα ευκαρυωτικά κύτταρα προσλαμβάνουν φολικό οξύ μέσα ενεργής μεταφοράς ενώ οι μικροοργανισμοί συνθέτουν de novo το απαραίτητο φολικό οξύ, καθιστά την συγκεκριμένη βιοσυνθετική οδό έναν εξαιρετικό στόχο για τα αντιβιοτικά. Τα αντιβιοτικά αυτά είναι η σουλφοναμίδη και η τριμεθοπρίμη, που καλύπτουν gram θετικά και αρνητικά βακτήρια.⁸

5. Παρεμβολή στη δομή της βακτηριακής μεμβράνης

Η εξωτερική μεμβράνη των βακτηρίων είναι φορτισμένη αρνητικά λόγω της πεπτιδογλυκάνης και των λιποπολυσακχαριτών της. Τα μόρια της πολυμυξίνης (αντιβιοτικό) είναι φορτισμένα θετικά και άρα έλκονται από την κυτταρική μεμβράνη των βακτηρίων. Με την πρόσδεση αυτή, η βακτηριακή μεμβράνη γίνεται διαπερατή, με αποτέλεσμα να αλλάζει η δομή της. Η αλλαγή αυτή οδηγεί σε αλλαγή στην ωσμωτική ισορροπία που έχει ως αποτέλεσμα την έξοδο κυτταρικών μορίων, την αναστολή της κυτταρικής αναπνοής και την πρόσληψη νερού εσωτερικά του κυττάρου, με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο. (εικόνα 4) ⁸



Εικόνα 5 Μηχανισμοί δράσης των αντιβιοτικών στο βακτηριακό κύτταρο

3. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: μηχανισμοί

Η ανθεκτικότητα στα φάρμακα που αναπτύσσουν οι μικροοργανισμοί κατά τη διάρκεια του χρόνου θεωρείται ότι βρίσκει τις ρίζες της στη θεωρία του Δαρβίνου (φυσική επιλογή), κατά την οποία ο πιο προσαρμοσμένος οργανισμός θα επιβιώσει και θα αναπαραχθεί στο περιβάλλον του περισσότερο από τον λιγότερο προσαρμοσμένο. Με τον τρόπο αυτό, οι μικροοργανισμοί διαθέτουν γενετική ποικιλότητα και τροποποιήσεις. Η ανθεκτικότητα των παθογόνων μικροοργανισμών έχει οδηγήσει σε δυσκολίες στην θεραπεία έναντι σε αυτά, σε αυξημένη νοσηρότητα αλλά και θνητότητα σε παγκόσμια κλίμακα.⁹

Οι μηχανισμοί κατά τους οποίους οι μικροοργανισμοί αποκτούν ανθεκτικότητα ή και ανοχή στα αντιμικροβιακά ποικίλλουν.

3.1 Ενδογενής ανθεκτικότητα

Η φυσική ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών σε διάφορα φάρμακα μπορεί να είναι ενδογενής (πάντα εκφράζεται στα διάφορα είδη) ή επαγόμενη (τα γονίδια υπάρχουν στους μικροοργανισμούς αλλά εκφράζονται μόνο μετά από έκθεση σε αντιβιοτικό).¹⁰

Κάποιοι μικροοργανισμοί διαθέτουν μοναδική δομή ή/και λειτουργικά χαρακτηριστικά, που τους δίνουν την δυνατότητα να εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά.⁸ Οι πιο συχνοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την ενδογενή ανθεκτικότητα είναι η μειωμένη ικανότητα διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης κυρίως στα Gram αρνητικά βακτήρια και η λειτουργία των αντλιών εκροής. Λόγω αυτών των χαρακτηριστικών, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά προκύπτει λόγω:

- ✓ Απουσία συγγένειας με τον βακτηριακό στόχο

Τα βακτήρια παράγουν πρωτεΐνες με σκοπό να αποκτήσουν ανθεκτικότητα έναντι σε ένα αντιβιοτικό. Για παράδειγμα, το γονίδιο *mecA* εκφράζει μία πρωτεΐνη πρόσδεσης στην πενικιλίνη, που επιτρέπει ανθεκτικότητα έναντι στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό για το βακτήριο *S. Aureus*.¹¹

- ✓ Μειωμένη πρόσληψη στο βακτηριακό κύτταρο

Τα περισσότερα αντιβιοτικά στοχεύουν σε ενδοκυτταρικούς στόχους. Τα βακτήρια έχουν εξελιχθεί ώστε να περιορίζουν την είσοδο των αντιβιοτικών, μέσω μειωμένης διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης.¹¹

✓ Αποβολή του σκευάσματος μέσω ενεργών μεταφορέων

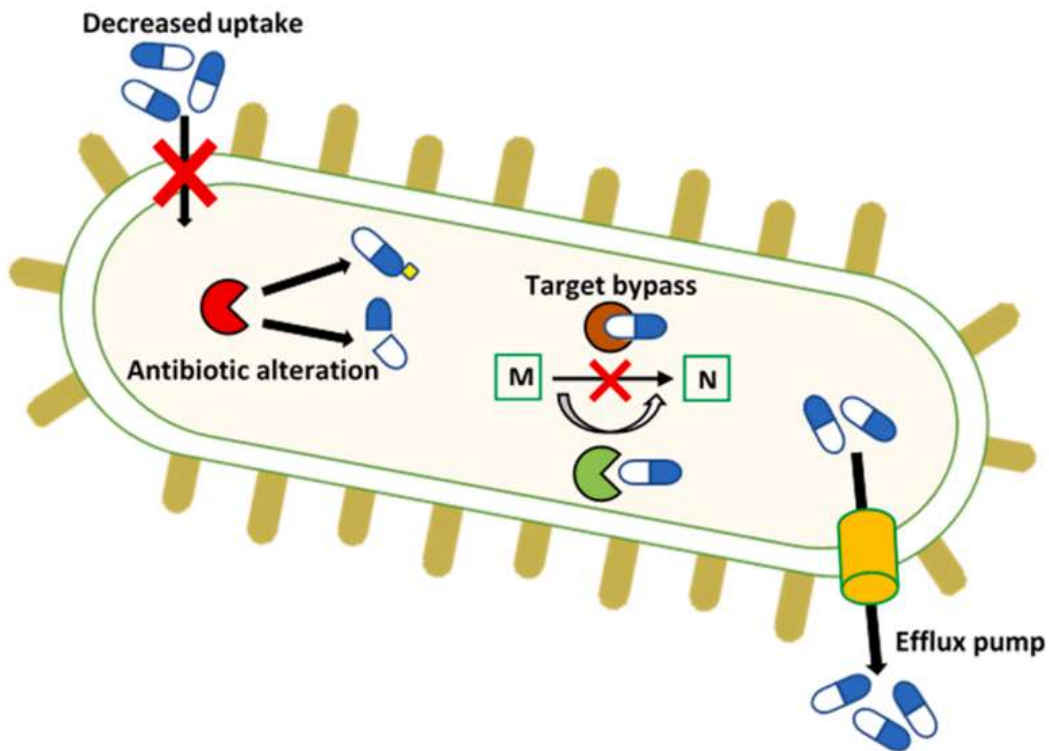
Ο ρόλος των αντλιών εκροής στην ενίσχυση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι σημαντικός. Οι αντλίες εκροής είναι μεταφορικές πρωτεΐνες που βρίσκονται στην μεμβράνη του βακτηριακού κυττάρου και εισάγουν θρεπτικές ενώ εξάγουν τοξικές ουσίες από το μικροπεριβάλλον του κυττάρου. Ο μηχανισμός εκροής φαίνεται ότι είναι ο βασικότερος μηχανισμός ανθεκτικότητας έναντι πολλών τάξεων αντιβιοτικών.¹¹

✓ Απενεργοποίηση του αντιβιοτικού μέσω βιοσύνθεσης ειδικών ενζύμων¹⁰

Η απενεργοποίηση του αντιβιοτικού είναι μία διαδικασία βασιζόμενη σε ένζυμα, κατά την οποία το μόριο του αντιβιοτικού θα αδρανοποιηθεί μέσω ενζύμων που παράγουν τα ανθεκτικά κύτταρα. Μία από τις στρατηγικές που ακολουθεί το κύτταρο του μικροβίου για να απενεργοποιήσει το αντιβιοτικό είναι η υδρόλυση και κατά τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιεί ένζυμα όπως η ακυλοτρανσφεράση, η φωσφοτρανσφεράση και η θειολτρασφεράση μέσω της μεθόδου του πολυμερισμού μέσω μεταφοράς. Η μέθοδος της οξειδοαναγωγής είναι η απενεργοποίηση μέσω οξείδωσης ή αναγωγής του φαρμακευτικού μορίου.¹¹

Λόγω της ποικιλομορφίας των βακτηρίων όσων αφορά τη δομή τους, και ειδικά σχετικά με τις μεμβράνες τους (Gram θετικά και αρνητικά βακτήρια), υπάρχουν διαφορετικοί τύποι στους μηχανισμούς της ανθεκτικότητας, όπως για παράδειγμα: τα Gram αρνητικά βακτήρια χρησιμοποιούν και τους 4 μηχανισμούς ενώ τα Gram θετικά βακτήρια δεν έχουν την ικανότητα να αναπτύξουν συγκεκριμένους τύπους αντλιών εκροής λόγω της έλλειψης φωσφολιπιδικής εξωτερικής μεμβράνης.¹⁰

Παράδειγμα της συγκεκριμένης κατηγορίας αποτελεί το βακτήριο *Mycoplasma spp*, το οποίο δεν έχει κυτταρικό τοίχωμα και άρα είναι ανθεκτικό στα αντιβιοτικά β-λακτάμης και σε γλυκοπεπτίδια. Παράλληλα, η ανικανότητα ενός αντιβιοτικού να εισέλθει στα βακτηριακά κύτταρα λόγω της ύπαρξης μίας εξωτερικής μεμβράνης, είναι άλλο ένα παράδειγμα της ενδογενούς ανθεκτικότητας. Μπορεί επίσης να είναι αποτέλεσμα ενός συστήματος εξόδου στα κύτταρα ή λόγω της ικανότητας κάποιων ειδών βακτηρίων να παράγουν συγκεκριμένα ένζυμα που έχουν την ικανότητα να αδρανοποιούν τα αντιβιοτικά (όπως το ένζυμο AmpC β-λακταμάση στην *E. coli*).⁸ (εικόνα 5)



Εικόνα 6 Ενδογενής ανθεκτικότητα

3.2 Επίκτητη ανθεκτικότητα

Ως επίκτητη ανθεκτικότητα ορίζεται όταν παθογόνα που αρχικά επηρεάζονταν από αντιβιοτικά γίνονται λιγότερα ευαίσθητα σε αυτά. Η επίκτητη ανθεκτικότητα είναι διαφορετική από την ενδογενή καθώς τα γονίδια ή οι μεταλλάξεις που ευθύνονται για αυτήν αρχικά δεν υπήρχαν. Παθογενή καθώς και συμβιωτικά βακτήρια συχνά είναι φορείς μεταβιβάσιμων γονιδιακών στοιχείων. Πολύπλοκοι μοριακοί μηχανισμοί οδηγούν στην εξάπλωση της ανθεκτικότητας όπως:

- ✓ Γενετικοί μηχανισμοί μεταφοράς: σύζευξη, μετασχηματισμός, μεταγωγή
- ✓ Μεταθετά γενετικά στοιχεία (MGEs)
- ✓ Ανθεκτικότητα μέσω μεταλλάξεων

3.2.1 Γενετικοί μηχανισμοί μεταφοράς

Η ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά μπορεί να μεταφέρεται μέσω του γενετικού υλικού με ‘κάθετη’ μεταφορά, που συμβαίνει όταν οι απόγονοι των μικροοργανισμών λαμβάνουν γονίδια ανθεκτικότητας ή με ‘οριζόντια’ μεταφορά που συμβαίνει όταν οι μικροοργανισμοί (βακτήρια και ιοί) ανταλλάσσουν τμήματα γενετικού υλικού.¹⁰

✓ Σύζευξη

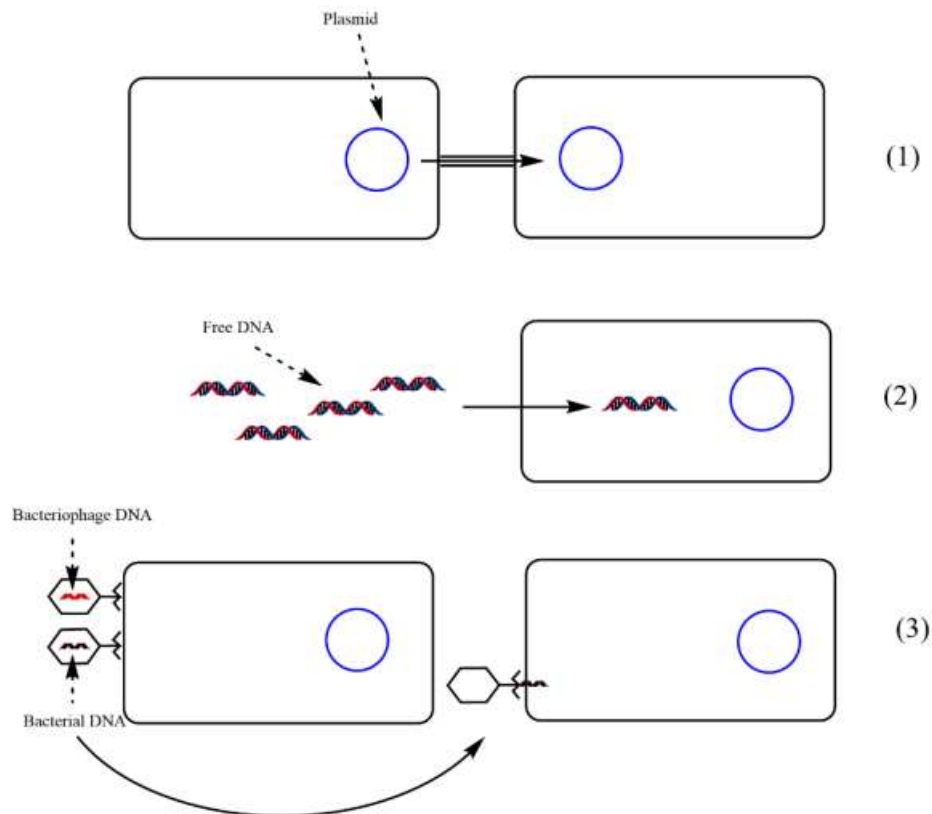
Η σύζευξη αποτελεί τον πιο κοινό μηχανισμό που ευθύνεται για την μεταφορά γονιδίων ανθεκτικότητας. Η διαδικασία γίνεται σε πολλά διαφορετικά στάδια και απαιτεί κοντινή επαφή του δότη γενετικού υλικού με τον δέκτη. Σε αυτόν τον τύπο γονιδιακής μεταφοράς είναι παρόν ο παράγοντας F στο κύτταρο-δότη, ο οποίος αποτελεί ένα αυτόνομο μόριο DNA.¹⁰

✓ Μετασηματισμός

Η διαδικασία του μετασηματισμού περιλαμβάνει την απορρόφηση ενός κλώνου DNA, που απελευθερώνεται στο μικροπεριβάλλον ως αποτέλεσμα λύσης κυττάρου. Το DNA-κλώνος ενσωματώνεται στο κύτταρο-ξενιστή, είτε μέσω ενσωμάτωσης στο γονιδίωμα ή μέσω πλασμιδίων που αναπροσαρμόζουν την δομή του γονιδιώματος.¹⁰

✓ Μεταγωγή

Η μεταγωγή είναι αποτέλεσμα της δράσης κάποιων βακτηριοφάγων, που είναι ιοί που προσβάλλουν βακτήρια. Οι βακτηριοφάγοι ενσωματώνουν ένα μέρος του υλικού τους γονιδίου στο κύτταρο του ξενιστή ή μεταφέρουν συγκεκριμένα γονίδια μέσα στα κύτταρα.¹⁰ (εικόνα 6)



Εικόνα 7 Γενετικοί Μηχανισμοί Μεταφοράς (1) Σύζευξη (2) Μετασχηματισμός (3) Μεταγωγή

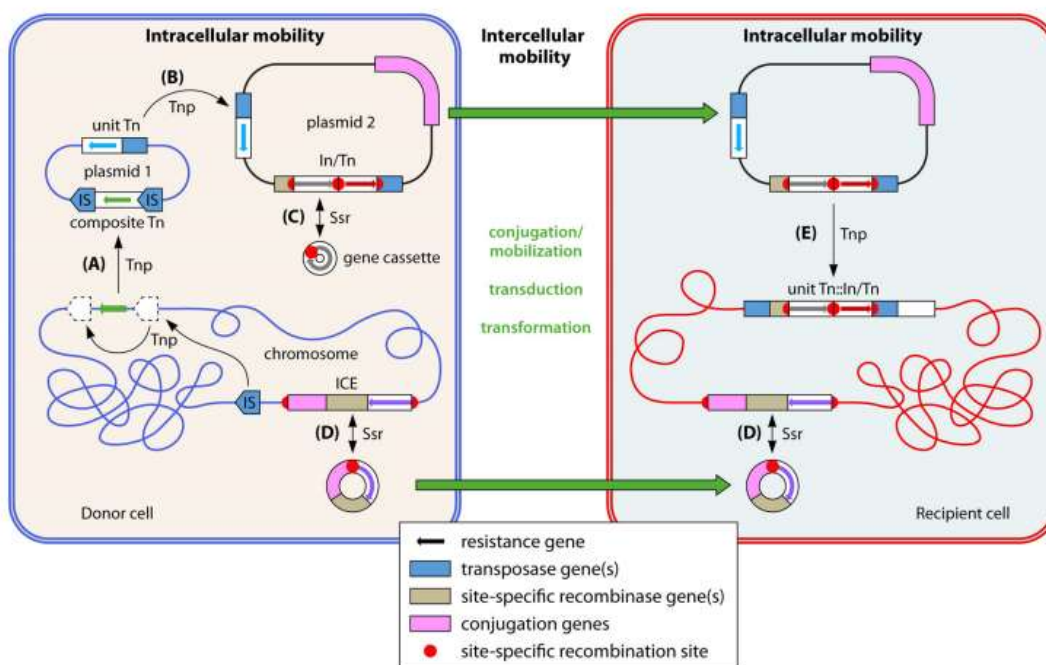
3.2.2 Μεταθετά γενετικά στοιχεία (MGEs)

Τα MGEs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη και ανοχή της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.¹⁰ Με τον όρο μεταθετά στοιχεία, αναφερόμαστε σε στοιχεία που υποκινούν ενδοκυτταρικά την κινητικότητα του DNA (από χρωμοσώματα σε πλασμίδια αλλά και μεταξύ πλασμιδίων) καθώς και σε στοιχεία που ενεργοποιούν την κινητικότητα του DNA μεταξύ κυττάρων.¹²

Οι αλληλουχίες εισαγωγείς και τα τρανσποζόνια αποτελούν κομμάτια DNA τα οποία έχουν την ικανότητα να μετακινούν τους εαυτούς τους σχεδόν τυχαία μεταξύ του ίδιου ή και διαφορετικού μορίου DNA μέσα σε ένα κύτταρο. Τα στοιχεία αυτά συνδέονται με την εμφάνιση γονιδίων ανθεκτικότητας. Άλλα στοιχεία, όπως οι ιντεγκρίνες, χρησιμοποιούν την διαδικασία του στοχευμένου ανασυνδυασμού, προκειμένου να μετακινήσουν γονίδια ανθεκτικότητας μεταξύ συγκεκριμένων στόχων. Καθώς αυτού του τύπου τα μεταθετά στοιχεία, βρίσκονται συχνά σε πολλαπλά αντίγραφα και σε διαφορετικές θέσεις στο

γονιδίωμα, μπορούν επίσης να υποκινήσουν ομόλογο ανασυνδυασμό των χρωμοσωμάτων.¹²

Στην κατηγορία των μεταθετών στοιχείων ανήκουν και τα πλασμίδια, που αποτελούν μικρά κυκλικά μόρια DNA τα οποία μπορούν να αναπαραχθούν ανεξάρτητα από κύριο γενετικό υλικό. Τα γονίδια που φέρουν τα πλασμίδια αποτελούν γονίδια μη ζωτικής σημασίας για το κύτταρο, αλλά έχουν ευεργετικές ιδιότητες. Η διαδικασία μεταφοράς γενετικού υλικού από τα πλασμίδια, γίνεται μέσω μεταγωγής ή μετασχηματισμού.¹⁰ (εικόνα 7)



Εικόνα 8 Μεταθετά γενετικά στοιχεία (MGEs)

3.3 Ανθεκτικότητα μέσω μεταλλάξεων

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά βρίσκει τις ρίζες της στην δεκαετία του 1940, που η πρώτη επιβεβαιωμένη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά οφειλόταν σε μετάλλαξη. Οι γενετικοί παράγοντες της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά περιλαμβάνουν όχι μόνο μεταφορά γονιδίων αλλά και μεταλλάξεις.

✓ Αυθόρμητες μεταλλάξεις

Οι αυθόρμητες μεταλλάξεις μπορούν να καθοδηγούνται από πολλούς παράγοντες αλλά κυρίως μέσω εμπλοκής με την αντιγραφή του DNA. Αυτού του τύπου οι μεταλλάξεις αφορούν μεταλλαγές μονού ή πολλών νουκλεοτιδίων και περιλαμβάνουν προσθήκη και διαγραφή βάσεων. ¹¹

✓ Υπερμεταλλάξεις

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι υπερμεταλλάξεις διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Οι μικροοργανισμοί που είναι υπεύθυνοι για τις υπερμεταλλάξεις έχουν αυξημένη ικανότητα να κάνουν αυθόρμητες μεταλλάξεις σε περιπτώσεις λάθους της αντιγραφής του DNA ή βλάβης του συστήματος επιδιόρθωσής τους. Ο μεγάλος ρυθμός μεταλλάξεων που χαρακτηρίζει τα βακτήρια, τους επιτρέπει να προσαρμόζονται γρήγορα σε αντιμικροβιακούς παράγοντες, στο ανοσολογικό σύστημα του ξενιστή καθώς και σε περίπτωση ικών παράσιτων. ¹¹

✓ Προσαρμοστικές μεταλλάξεις

Παρόλο που οι προσαρμοστικές μεταλλάξεις αποτελούν έναν σχετικά ανεξερεύνητο τομέα, είναι αδιαμφισβήτητο ότι είναι από τους κύριους λόγους ανθεκτικότητας σε κλινικό περιβάλλον. Αυτή η ξεχωριστή ικανότητα αφορά σε μη διαιρούμενους μικροοργανισμούς, που εκτίθενται σε μη-θανατηφόρα ειδική πίεση (όπως υπο-ανασταλτικές δόσεις συγκέντρωσης αντιβιοτικού). Για αυτόν τον λόγο, οι προσαρμοστικές μεταλλάξεις χαρακτηρίζονται ως καθοδηγούμενες, στατικής φάσης ή επιλεγμένες μεταλλάξεις. Οι μεταλλάξεις αυτές ελέγχονται από την απάντηση SOS (απάντηση σε βλάβη του DNA κατά την οποία ο κυτταρικός κύκλος διακόπτεται). ¹¹

3.4. Ανθεκτικότητα μέσω δημιουργίας βιοφίλμ

Τα βιοφίλμ αποτελούν μία συσσωρευμένη μάζα μικροοργανισμών, που προστατεύονται μέσω μίας εξωκυτταρικής μήτρας και με αυτόν τον μηχανισμό, οι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να αναπτύσσονται κάτω από ποικίλες συνθήκες. Τα βιοφίλμ μπορούν να αποτελούνται μόνο από ένα είδος βακτηρίων αλλά τις περισσότερες φορές απαρτίζονται από διάφορα είδη βακτηρίων καθώς επίσης και από μύκητες, πρωτόζωα και άλλους μικροοργανισμούς. Τα βιοφίλμ περικλείονται από αλυσίδες μορίων σακχαριτών που λέγονται εξωκυττάρια πολυμερείς ουσίες. Τα κύτταρα που παράγουν αυτές τις ουσίες και συγκεντρώνονται γύρω τους έχουν την ικανότητα να αναπτύξουν ανοχή σταθερότητα και

πολύπλοκες μικροβιακές κοινότητες, που τους δίνουν την δυνατότητα να προστατεύονται από άλλους μικροοργανισμούς και να επιβιώνουν υπό αντίξοες συνθήκες. Η εκρίζωση των βιοφίλμ αποτελεί μία δύσκολη διαδικασία, καθώς αποτελείται από κύτταρα που εμφανίζουν ανοχή έναντι σε θεραπεία μέσω αντιβιοτικών.¹⁰

4. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Αιτίες

Η θεραπεία με αντιβιοτικά αποτελεί μία από τις βασικές προσεγγίσεις της ιατρικής προκειμένου να καταπολεμήσουν λοιμώξεις. Ωστόσο, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί ένα δυναμικό και ολοένα και μεγαλύτερο πρόβλημα, το οποίο βρίσκει τις ρίζες του σε πληθώρα αιτιών.¹³

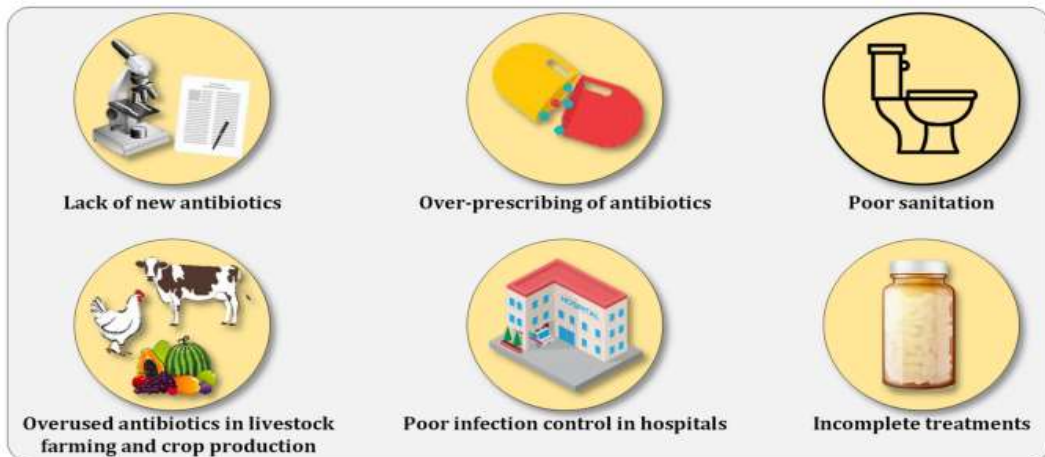
- ✓ Η ανεύρεση νέων αντιβιοτικών είναι απαραίτητη προκειμένου να αποφευχθούν και να θεραπευθούν μεταδοτικές ασθένειες. Ωστόσο, στην φαρμακευτική βιομηχανία, λίγα είναι τα νέα, και καινοτόμα αντιβιοτικά που αναπτύσσονται. Η άρνηση των φαρμακευτικών εταιρειών να ερευνήσουν και να αναπτύξουν νέα αντιβιοτικά αποτελεί ένα πολυπαραγοντικό θέμα. Πολλές από τις μεγαλύτερες φαρμακευτικές εταιρείες έχουν μειώσει ή ακόμα και σταματήσει την έρευνα σχετικά με τα αντιβιοτικά, λόγω της έλλειψης κέρδους. Το αποτέλεσμα είναι ότι από το 2013 μόνο 4 πολυεθνικές εταιρείες διατηρούν τμήματα ανάπτυξης αντιβιοτικών.¹⁴
- ✓ Η κατάχρηση, καθώς και η μη σωστή χρήση των αντιβιοτικών, που περιλαμβάνει την λάθος επιλογή και την λάθος δόση αντιβιοτικού, συνεισφέρει στην εμφάνιση ανθεκτικότητας στους μικροοργανισμούς. Στον αναπτυσσόμενο κόσμο, η ανεξέλεγκτη διαθεσιμότητα των αντιβιοτικών σε μία κοινωνία, συχνά οδηγεί σε ‘αυτό’-θεραπεία. Σε κάποιες χώρες της Αφρικής, η χρήση αντιβιοτικών γίνεται σχεδόν πάντα χωρίς ιατρική συνταγή. Σε αυτή την περίπτωση, η αυτό θεραπεία σχετίζεται με ανεπαρκή δοσολογία και διάρκεια χρήσης αντιβιοτικών καθώς και περιττή κατανάλωσή τους. Στον ανεπτυγμένο κόσμο, η χωρίς λόγο συνταγογράφηση αντιβιοτικών, λόγω αμφιλεγόμενης διάγνωσης καθώς και λόγω των απαιτήσεων των ασθενών αποτελούν λόγους ανάπτυξης ανθεκτικότητας των μικροβίων στα αντιβιοτικά.¹⁴
- ✓ Οι βιομηχανίες τροφίμων και ζώων έχουν επίσης συμβάλει στην επικράτηση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Πριν από το 2003, τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνταν όχι μόνο για την θεραπεία νόσων των ζώων, αλλά κυρίως ως μέσα πρόληψης και παράγοντες ανάπτυξης. Στην Ευρώπη και στην Αμερική αποτελούσε μία καθημερινή τακτική. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση η χρήση των αντιβιοτικών ως τρόπος προώθησης της ανάπτυξης στα ζώα απαγορεύτηκε το 2006, ενώ στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής περιορίστηκε η χρήση αντιβιοτικών χωρίς ιατρική συνταγή το 2012. Ωστόσο, στον λιγότερο ανεπτυγμένο κόσμο, οι τακτικές

που επικρατούσαν πριν το 2003, συνεχίζουν χωρίς καμία αλλαγή. Άλλες περιβαλλοντικές αιτίες, που συνεισφέρουν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι στα αντιβιοτικά των μικροοργανισμών είναι η απορροή απορριμμάτων από μεγάλες φάρμες, τα αστικά λύματα που περιέχουν μερικώς μεταβολισμένα ή απορριφθέντα ιατρικά σκευάσματα, αστικά φυτά που ποτίζονται και στα οποία χρησιμοποιείται χώμα με φάρμακα καθώς και φυσικά παθογενή βακτήρια που βρίσκονται σε ύδατα και στο έδαφος. Είναι σημαντικό να σημειωθεί επίσης, ότι στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 80% της χρήσης των αντιβιοτικών αφορά στη γεωργία και τις υδατοκαλλιέργειες.¹⁴

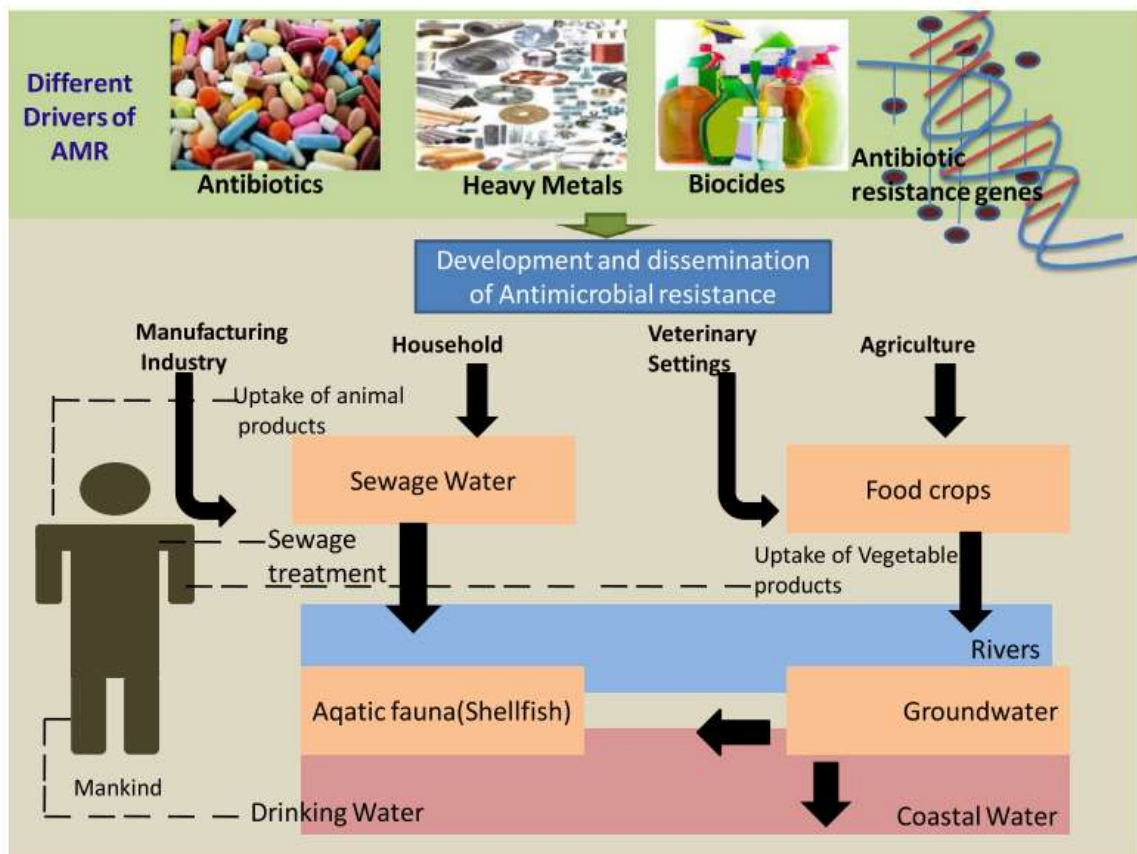
- ✓ Οι συνθήκες αποθήκευσης των αντιβιοτικών αποτελεί άλλον έναν παράγοντα που βοηθάει στην εξέλιξη της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Η ποιότητα οποιουδήποτε φαρμάκου όσον αφορά την δραστηρότητά του, μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά από την θερμοκρασία και την υγρασία στις συνθήκες αποθήκευσής του. Με βάση μελέτες, αντιμικροβιακά που εμπορευματοποιούνται στην Αφρική χάνουν την δραστηρότητά τους πολύ εύκολα, λόγω των αντίξοων καιρικών συνθηκών. Όταν ασθενείς χρησιμοποιούν αυτά τα αντιβιοτικά, πιθανότητα να μην φτάσουν την κατάλληλη περιεκτικότητα φαρμάκου, με αποτέλεσμα να μην θεραπευτούν. Η συνεχόμενη ελλιπή δοσολογία, οδηγεί σε αποτυχία της θεραπείας και προωθεί την ανθεκτικότητα των βακτηρίων.¹⁵
- ✓ Τα αντιβιοτικά συχνά βρίσκονται σε επιφανειακά και σε λύματα υδάτων. Αυτό σημαίνει ότι υπολείμματα αντιβιοτικών έχουν μολύνει τις κύριες πηγές πόσιμου νερού για τους ανθρώπους και η παρουσία τους μπορεί να επιμένει για αρκετούς μήνες. Επίσης, τα υπολείμματα των αντιβιοτικών μπορεί να μην απομακρύνονται αποτελεσματικά μέσω των παραδοσιακών τεχνολογιών απολύμανσης που ακολουθούνται για το πόσιμο νερό. Έτσι, έχει παρατηρηθεί ότι αντιβιοτικά όπως οι κινολόνες, οι σουλφοναμίδες και άλλα εντοπίζονται σε πόσιμο νερό σε μεγάλη συγκέντρωση.¹⁶
- ✓ Άλλοι παράγοντες που προωθούν την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι η μη σωστή υγιεινή καθώς και ο κακός έλεγχος των λοιμώξεων στα νοσοκομεία.¹⁷ Τα νοσοκομεία και άλλες υγειονομικές δομές είναι σημαντικές πηγές παραγωγής αντιμικροβιακών λυμάτων είτε έμμεσα μέσω των εκκρίσεων των ασθενών είτε άμεσα μέσω απόρριψης ιατρικών σκευασμάτων. Σε φαρμακευτικά λύματα έχουν

βρεθεί υψηλά ποσοστά αντιμικροβιακών, που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια διάφορων θεραπειών και έπειτα απελευθερώνονται στο περιβάλλον. ⁶ (εικόνα 8)

- ✓ Τα μέταλλα και οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά διαθέτουν ομοιότητες δομικές και λειτουργικές. Παρόμοια με τους μικροοργανισμούς με ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, τα βαρέα μέταλλα έχουν επίσης μηχανισμούς ανθεκτικότητας, όπως μειωμένη διαπερατότητα μεμβράνης, αλλαγή θέσης στόχου, λειτουργία αντλιών εκροής. Έχει βρεθεί ότι τα βαρέα μέταλλα διαθέτουν 20 γονίδια ανθεκτικότητας. Βακτήρια που εκμεταλλεύονται τα γονίδια ανθεκτικότητας των μετάλλων έχει αναδειχθεί ότι διαθέτουν περισσότερα γονίδια ανθεκτικότητας έναντι στα αντιβιοτικά, συγκριτικά με τα βακτήρια που δεν έχουν εκτεθεί σε βαρέα μέταλλα. Η επιλογή των κατάλληλων μετάλλων με στόχο να μειωθεί η ανθεκτικότητα περιλαμβάνει την επανεκτίμηση του περιβάλλοντος, λαμβάνοντας υπόψη την συνδυασμένη έκθεση σε μέταλλα, αντιβιοτικά και βιοκτόνα. ⁶
- ✓ Τα βιοκτόνα περιλαμβάνουν πληθώρα χημικών ουσιών που έχουν βιοστατική ή βιοκτονική δράση έναντι σε πολλούς μικροοργανισμούς. Τα απολυμαντικά χρησιμοποιούνται στους τομείς της αισθητικής, σε νοσοκομεία, σε νοικοκυριά και σε βιομηχανικές διεργασίες. Ο συνδυασμός βιοκτόνων έχει βρεθεί ότι προάγει την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά σε αρκετούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Περιεκτικότητες βιοκτόνων που δεν είναι ικανές να σκοτώσουν τους μικροοργανισμούς, διευκολύνουν τις προσαρμοστικές μεταλλάξεις που προσδίδουν ανθεκτικότητα έναντι στα αντιβιοτικά. ⁶ (εικόνα 9)



Εικόνα 9 Αιτίες εμφάνισης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά με βάση των Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO)



Εικόνα 10 Διάφοροι παράγοντες Ανθεκτικότητας στα Αντιβιοτικά και η πιθανή πορεία τους προς τον άνθρωπο

5. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι

Τις τελευταίες δεκαετίες, η έρευνα σχετικά με την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, αυξάνεται σταθερά και αποτελεί πλέον ένα από τα μεγαλύτερα πεδία έρευνας στον τομέα της μικροβιολογίας. Ο βασικός λόγος που οι ερευνητές έχουν στρέψει την προσοχή τους εκεί, είναι η αίσθηση της αναγκαιότητας να λυθεί το παγκόσμιο αυτό πρόβλημα, καθώς θεωρείται καταστροφικό για την υγεία του ανθρώπου.¹⁸

Οι κίνδυνοι που απορρέουν από την παγκόσμια κρίση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρία διαφορετικά επίπεδα: όσον αφορά στους ασθενείς, όσον αφορά στην φροντίδα υγείας καθώς και σε οικονομικό επίπεδο.⁵

5.1. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι για τους ασθενείς.

Η νοσηρότητα και η θνησιμότητα αποτελούν τις πιο σημαντικές συνέπειες τις ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά όσον αφορά στους ασθενείς. Συγκρινόμενοι με μη ανθεκτικούς μικροοργανισμούς, μικροοργανισμοί με ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά έχουν διπλάσιες πιθανότητες να προκαλέσουν σοβαρά προβλήματα υγείας και τριπλάσιες πιθανότητες να οδηγήσουν σε θάνατο του ασθενούς.⁵

- ✓ Άμεση θνησιμότητα οφειλόμενη στην ανθεκτικότητα

Η άμεση θνησιμότητα οφειλόμενη στην ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αφορά σε ασθενείς για τους οποίους ο θάνατος θα είχε αποφευχθεί εάν ο μικροοργανισμός που τους προσέβαλε δεν εμφάνιζε ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Παγκοσμίως, αναφέρεται ότι η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά, είναι υπεύθυνη για παραπάνω από 7 εκατομμύρια θανάτους ανά χρόνο, ενώ εκτιμάται ότι μέχρι το 2050 θα έχει φτάσει στους 10 εκατομμύρια θανάτους ανά χρόνο.¹⁸

- ✓ Έμμεση θνησιμότητα οφειλόμενη στην ανθεκτικότητα

Τα αντιβιοτικά τροποποιούν την βέλτιστη ποσότητα μικροοργανισμών του ανθρώπινου μικροβιώματος. Για εξελικτικούς λόγους, οι περισσότεροι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί είναι μη ή ελάχιστα παθογόνοι προς τον ξενιστή τους. Η ανθεκτικότητα έναντι στα αντιβιοτικά σε αυτά τα είδη, ωστόσο, έχει την ικανότητα προστασίας έναντι σε υπερανάπτυξη άλλων, περισσότερο παθογόνων μικροοργανισμών, ενώ αυξάνει την ανθεκτικότητα της αποικίας (ανθεκτικότητα του μικροβιώματος). Η υπερέκθεση σε

αντιβιοτικά, είναι γνωστό ότι αυξάνει την αναλογία του μικροβιώματος, οδηγώντας σε μη επιθυμητά αποτελέσματα, παρά το γεγονός ότι η απόκτηση αντίστασης στα αντιβιοτικά, συνήθως δεν οδηγεί σε νοσηρότητα όσον αφορά το μικροβίωμα του ανθρώπου.¹⁸

5.2. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Κίνδυνοι στην Ιατρική Περίθαλψη

Οι νοσοκομειακές λοιμώξεις συσχετίζονται με μολυσματικούς παράγοντες, που προκαλούν μολύνσεις σε ασθενείς που εισάγονται στα νοσοκομεία. Αυτές οι λοιμώξεις είναι πιθανό να εξαπλωθούν στα όρια των νοσοκομείων, κατά τη διάρκεια της νοσηλείας των ασθενών. Η αντιμετώπιση των νοσοκομειακών λοιμώξεων, αποτελεί μία χρονοβόρο διαδικασία που περιλαμβάνει την πρόσληψη αντιβιοτικών από τους ασθενείς. Ωστόσο, η μη συνετή χρήση αντιβιοτικών εγείρει προκλήσεις, λόγω της ολοένα και μεγαλύτερης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Έτσι, η εμφάνιση ισχυρών στελεχών βακτηρίων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα έναντι σε πολλαπλά φάρμακα αποτελεί έναν ολοένα και ισχυρότερο κίνδυνο.¹⁹

Παράλληλα, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, έχει καταστροφικές συνέπειες όσον αφορά τα κόστη της νοσοκομειακής περίθαλψης. Η θεραπεία ασθενών με ανθεκτικές λοιμώξεις χρησιμοποιώντας έναν συνδυασμό θεραπευτικών σχημάτων, μπορεί να αποδειχθεί αναποτελεσματική. Έτσι, συγκρινόμενοι με ασθενείς που δεν έχουν προσβληθεί από κάποιο ανθεκτικό στέλεχος μικροοργανισμών, μπορεί να χρειαστούν μεγαλύτερη διάρκεια νοσηλείας και η ανάγκη περισσότερων μονάδων Μ.Ε.Θ. προκειμένου να αποκλειστεί η εξάπλωση της μόλυνσης αυξάνεται. Επίσης, η έξαρση κάποιας ενδονοσοκομειακής μόλυνσης μπορεί να οδηγήσει στον αποκλεισμό κάποιας νοσοκομειακής πτέρυγας καθώς και στην ακύρωση χειρουργικών επεμβάσεων, δεδομένα που οδηγούν στην μείωση κέρδους των νοσοκομείων.²⁰

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά προκαλεί εμπόδια στο σύστημα Υγείας μέσω δευτερογενών παραγόντων. Αυτοί οι παράγοντες, αφορούν σε επεμβάσεις που χρησιμοποιούν αντιβιοτικά, προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος μεταχειρουργικών λοιμώξεων. Η προστασία από τις μεταχειρουργικές λοιμώξεις, τις περισσότερες φορές δεν είναι πλήρως αποτελεσματική, λόγω της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.²¹ Επίσης, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί εμπόδιο στην επιτυχή μεταμόσχευση οργάνων, καθώς κατά την μεταμόσχευση οι ασθενείς εκτίθενται σε πολλαπλές λοιμώξεις. Έχει

αποδειχθεί ότι παθογόνα με πολλαπλή ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση της πιθανότητας το μόσχευμα να απορριφθεί και ο ασθενής να καταλήξει. Άλλη μία κατάσταση που επιβαρύνεται λόγω της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, αποτελεί η θεραπεία των ασθενών με καρκίνο. Λόγω της χημειοθεραπείας, το ανοσοποιητικό σύστημα των ασθενών εξασθενεί, καθιστώντας τους ασθενείς αυτούς ευάλωτους σε λοιμώξεις. Ωστόσο, λόγω της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, η παροχή αντιβιοτικών στους ασθενείς αυτούς αποτελεί ένα πείραμα τύχης, κάνοντας την θεραπεία έναντι του καρκίνου μία ακόμα πιο δύσκολη πρόκληση.⁵

5.3 Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Οικονομικοί κίνδυνοι

Μελέτες δείχνουν ότι σε ενδεχόμενη αποτυχία διαχείρισης της ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά, ο παγκόσμιος προϋπολογισμός μέχρι το 2050 θα είναι μέχρι και 444 εκατομμύρια χαμηλότερος λόγω της ανθεκτικότητας. Με οικονομικούς όρους, η ανθεκτικότητα αποτελεί μία αρνητική εξωτερικότητα, δηλαδή έχει ανεπιθύμητα αποτελέσματα και σε ανθρώπους που δεν καταναλώνουν αντιβιοτικά.²²

Ο κίνδυνος σχετικά με την ιατρική ανέχεια είναι πιο ορατός στους πληθυσμούς που είναι φτωχοί, αμόρφωτοι και αμαθείς, φαινόμενα που παρατηρούνται κυρίως στις υπανάπτυκτες και αναπτυσσόμενες χώρες. Ωστόσο, σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, φαίνεται ότι και στις χώρες μεσαίου-χαμηλού εισοδήματος υπάρχει έλλειψη πόρων και υποδομών σε όλα τα επίπεδα της ιατρικής περίθαλψης. Το υψηλό κόστος της ιατρικής περίθαλψης οδηγεί σε μακροχρόνια πτωχοποίηση, νοσηρότητα και θνησιμότητα.²²

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί μία από τις βασικές αιτίες ‘περιστασιακής ένδειας’ και ‘διαγενεακής ένδειας’ σε ευάλωτες κοινωνικοοικονομικές ομάδες. Η περιστασιακή ένδεια περιορίζεται σε μία ειδική περίπτωση (ασθένεια). Ωστόσο, με την εμφάνιση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, η νόσος εμμένει και οδηγεί σε ατομική ένδεια που με τη σειρά της οδηγεί σε διαγενεακή ένδεια.²² (εικόνα 9)

Λόγω λοιπόν της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, η διαφορά μεταξύ των αναπτυσσόμενων και των ανεπτυγμένων χωρών θα αυξάνεται, κάνοντας την κοινωνική ανισότητα να αυξάνεται συνεχόμενα. Οι περισσότεροι άνθρωποι που θα ωθούνται σε σοβαρή ένδεια ως αποτέλεσμα της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά θα είναι άτομα που κατάγονται από χώρες χαμηλού εισοδήματος.⁵

Επιπλέον, εκτός του άμεσου οικονομικού αποτελέσματος στο ΑΕΠ των χωρών, η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά έχει σημαντική επίπτωση στην εργασία, καθώς η παραγωγικότητα μειώνεται λόγω ασθένειας και πρόωρου θανάτου. Οι θάνατοι λόγω ανθεκτικότητας στα αντιμικροβιακά μειώνουν το εργατικό δυναμικό, που με τη σειρά του μειώνει το μέγεθος του πληθυσμού καθώς και την ποιότητα του ανθρώπινου δυναμικού μιας χώρας.⁵

Το παγκόσμιο εμπόριο θα επηρεαστεί επίσης σοβαρά από την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά. Έχει βρεθεί ότι μέχρι το 2050 οι παγκόσμιες εξαγωγές θα έχουν μειωθεί σημαντικά λόγω των αποτελεσμάτων της αντιμικροβιακής αντίστασης σε τομείς που εξαρτώνται από την ανθρώπινη εργασία.⁵

Τέλος, οι επιπτώσεις της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στην κτηνοτροφική παραγωγή θα είναι επίσης ραγδαίες. Όπως και στους ανθρώπους, το αντίκτυπο της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στα ζώα είναι η νοσηρότητα και η θνησιμότητα. Το φαινόμενο αυτό θα οδηγήσει σε μικρότερη παραγωγή και εμπόριο κτηνοτροφικών προϊόντων, με αποτέλεσμα οι τιμές αγοράς σε πρωτεϊνικά προϊόντα να αυξάνονται, καθώς οι πηγές πρωτεΐνης όπως το γάλα, τα αυγά και το κρέας θα έχουν μειωθεί. Η έλλειψη ζωικής πρωτεΐνης θα αποτελέσει μία από τις μεγαλύτερες ανησυχίες, λόγω της αυξημένης ανάγκης για αυτά τα προϊόντα παγκοσμίως.⁵

6. Ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά: Αντιμετώπιση

Οι λοιμώξεις από παθογόνους μικροοργανισμούς που εμφανίζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί μία από τις μεγαλύτερες υγειονομικές απειλές για την ανθρωπότητα. Η έρευνα σχετικά με νέες προσεγγίσεις για να αντιμετωπιστεί η κρίση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά θα πρέπει να είναι προτεραιότητα παγκοσμίως, προκειμένου να μην επιστρέψουμε σε χαλεπούς καιρούς όπου η ανθρωπότητα δεν είχε πρόσβαση σε αντιβιοτικά-αντιμικροβιακά.²³

Οι προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση έναντι της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ποικίλουν.

6.1 Η αρχή της Ενιαίας Υγείας

Η Ενιαία Υγεία ορίζεται ως «η συλλογική προσπάθεια πολλαπλών επαγγελματιών των επιστημών υγείας, μαζί με τους σχετιζόμενους με αυτά τομείς και ιδρύματα –που εργάζονται σε τοπικό, εθνικό και παγκόσμιο επίπεδο-για να επιτύχουν τη βέλτιστη υγεία για τους ανθρώπους, τα οικόσιτα ζώα, την άγρια φύση, τα φυτά και το περιβάλλον μας».⁴⁰

Το φαινόμενο της αντοχής στα αντιβιοτικά έχει χαρακτήρα διατομεακό, καθώς εμπλέκονται σε αυτό διάφορα επαγγέλματα υγείας και για την επίλυσή του απαιτεί μία ολιστική και ολοκληρωμένη προσέγγιση βασισμένη στην αρχή της «Ενιαίας Υγείας». Σύμφωνα με το σχέδιο δράσης της Επιτροπής για την αντοχή στα αντιβιοτικά και του πρόσφατου ψηφίσματος του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου, ο στόχος της κοινότητας είναι να μειώσει την συνταγογράφηση και τη χρήση των αντιβιοτικών θεσπίζοντας αποτελεσματικά μέτρα πρόληψης, βιοασφάλειας και εμβολιασμών. Ένα από τα μέτρα που σχεδιάστηκαν για να μειώσουν τη χρήση αντιβιοτικών αποκαλείται «αποσύζευξη», που σημαίνει διαχωρισμό της συνταγογράφησης από τις πωλήσεις και διακοπή των οικονομικών κινήτρων που προσφέρονται στους ιατρούς για τη συνταγογράφηση αντιβιοτικών. Αυτή η πρόταση έχει συζητηθεί εκτενώς και έχει υποβληθεί σε κριτική από πολλές φαρμακευτικές βιομηχανίες και επαγγελματικούς συλλόγους.⁴¹

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990, όταν η αντοχή στα αντιβιοτικά πρωτοεμφανίστηκε ως μία σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή παρουσίασε έναν αριθμό 55 πρωτοβουλιών στην ιατρική και την κτηνιατρική στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές, όπως και στην επιστημονική έρευνα και μία προσπάθεια να μειωθεί η ανθρώπινη έκθεση σε δυνητικά ανθεκτικά στα αντιβιοτικά βακτηριακά στελέχη. Ακολούθως, μέτρα που

υιοθετήθηκαν από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή κάλυψαν ένα εύρος δράσεων σε Ευρωπαϊκό και διεθνές επίπεδο στους τομείς της συλλογής δεδομένων, της επιτήρησης της έρευνας και της ευαισθητοποίησης και της χρηματοδότησης διάφορων εργασιών που σχετίζονται με την αντοχή στα αντιβιοτικά μέσω του Κοινοτικού Προγράμματος Υγείας . Η Επιτροπή υπό το Έβδομο Πλαίσιο Προγράμματος για την Έρευνα και την Τεχνολογική Ανάπτυξη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, όπως και το πρόγραμμα - πλαίσιο «Ορίζοντας 2020» και η «Πρωτοβουλία Καινοτόμα Φάρμακα», χρηματοδότησε περισσότερες από 140 έρευνες σχετιζόμενες με την αντοχή στα μικρόβια με ένα προϋπολογισμό 130 εκατομμύρια ευρώ. Το πρόγραμμα «Τρίτη Υγεία 2014-2020» που χρηματοδότησε καινοτομίες σε θέματα υγείας, με σκοπό να διευκολύνει την πρόσβαση σε καλύτερη και ασφαλέστερη φροντίδα υγείας για τους πολίτες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, σε μία από τις θεματικές προτεραιότητες προβλέπει συγκεκριμένα μέτρα για την πρόληψη της αντοχής στα αντιβιοτικά και τον έλεγχο των λοιμώξεων που σχετίζονται με την φροντίδα υγείας . Το 2011, το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο, σε μία προσπάθεια να διαχειριστεί την αντοχή στα αντιβιοτικά, ενέκρινε ένα ψήφισμα στο οποίο καλεί για την αυστηρή δέσμευση των κυβερνήσεων των κρατών μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης να εφαρμόσουν εθνικές στρατηγικές για την αντοχή στα αντιβιοτικά οι οποίες να σχετίζονται με την συνετή χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων, και στην ιατρική και στην κτηνιατρική. Το Κοινοβούλιο κάλεσε την Επιτροπή να προτείνει ένα νομοθετικό πλαίσιο δράσης κατά της αντοχής στα αντιβιοτικά, προωθώντας καινοτομίες και υποστηρίζοντας τη διάχυση της πληροφορίας για: • τη συνετή χρήση των αντιμικροβιακών παραγόντων, • τον έλεγχο και την επιτήρηση της αντοχής στα αντιβιοτικά, 56 • την ανάγκη για έρευνα και την ανάπτυξη νέων αντιμικροβιακών παραγόντων και εναλλακτικών λύσεων, • ολιστική προσέγγιση και • διεθνή συνεργασία. Για να ενδυναμώσει επιπλέον την δέσμευσή της, η Επιτροπή ενέκρινε το 2011 ένα πενταετές σχέδιο δράσης κατά της αντοχής στα αντιβιοτικά, το οποίο καλύπτει επτά τομείς και ορίζει 12 δράσεις κλειδιά και στο πεδίο των ανθρώπων και στο πεδίο της κτηνιατρικής. Ουσιαστικά το σχέδιο δράσης βασίζεται σε μία ολιστική προσέγγιση που περιλαμβάνει όλους τους τομείς και τα θέματα που σχετίζονται με την αντοχή στα αντιβιοτικά όπως: η δημόσια υγεία, η υγεία των ζώων, η ασφάλεια των τροφίμων, η ασφάλεια των καταναλωτών, η έρευνα και η μη θεραπευτική χρήση των αντιβιοτικών. Σε συνέχεια της υιοθέτησης από το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο της αναφοράς σχετικά με τους αναδυόμενους κινδύνους σχετικά με την Μικροβιακή Πρόκληση από την αντοχή στα αντιβιοτικά, στις 11

Δεκεμβρίου 2012 η Επιτροπή εξέδωσε έναν ολοκληρωμένο οδηγό και μία αναφορά προόδου για την εφαρμογή του πενταετούς Σχεδίου Δράσης για την αντοχή στα αντιβιοτικά. Για την υποστήριξη της ευαισθητοποίησης των μελών σχετικά με την συνετή χρήση των αντιβιοτικών και τις συνέπειες της αντοχής των αντιβιοτικών στη δημόσια υγεία, τα Ευρωπαϊκά ιδρύματα οργανώνουν ένα ετήσιο συνέδριο για την αντοχή στα αντιβιοτικά, που καλείται «Ευρωπαϊκή Ημέρα Επαγρύπνισης για τη Συνετή Χρήση των Αντιβιοτικών». Η ετήσια αυτή δράση συντονίζεται από το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου Νοσημάτων και παρέχει μία πλατφόρμα για προϋπάρχουσες και σχεδιαζόμενες διεθνείς εκστρατείες για τη συνετή χρήση των αντιβιοτικών.⁴²

6.2 Αντιμετώπιση μέσω φραγμών ανθεκτικότητας έναντι στα αντιβιοτικά

Οι φραγμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά αποτελούν ουσίες που αυξάνουν την αποτελεσματικότητα των ήδη υπάρχοντων αντιβιοτικών, καταπολεμώντας τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας εναντίον τους. Οι ουσίες αυτές μπορεί να έχουν ή να μην έχουν άμεση δραστηριότητα έναντι των μικροοργανισμών και μπορούν να συγχρηματοδοτούνται με τα μη αποτελεσματικά αντιβιοτικά. Οι κύριες ομάδες των φραγμών ανθεκτικότητας που μελετώνται είναι οι αναστολείς τροποποιητικών ενζύμων, οι διαπερατές μεμβρανών καθώς και οι αναστολείς αντλιών εκροής.²³

✓ Αναστολείς τροποποιητικών ενζύμων

Οι μικροοργανισμοί διαθέτουν ποικιλία ενζύμων που σκοπό έχουν να μετατρέψουν ή να καταστρέψουν τα αντιβιοτικά με σκοπό να τα καταστήσουν αναποτελεσματικά και εντέλει να αποκτήσουν ανθεκτικό φαινότυπο. Τα ένζυμα αυτά μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ε βάσει των μηχανισμό δράσης τους ή/και το υπόστρωμα αντιβιοτικού στο οποίο δρουν. Η υδρόλυση συγκεκριμένων δεσμών στο μόριο του αντιβιοτικού, η μεταφορά κάποιας λειτουργικής μονάδας του αντιβιοτικού και λιγότερο συχνά μέσω οξειδοαναγωγής και ενζύμων λυάσης αποτελούν τους τρόπους δράσης των τροποποιητικών ενζύμων. Με την ανακάλυψη των ενζύμων αυτών, αναπτύχθηκαν αντιβιοτικά που μπορούν να είναι ανθεκτικά έναντι των τροποποιητικών ενζύμων, όπως η β-λακτάμη φλουκλοξασιλίνη, που είναι ανθεκτική έναντι στις πενικιλινάσες. Μία μέθοδος όμως που αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική, ήταν ο σχεδιασμός μορίων αναστολείς έναντι των τροποποιητικών ενζύμων, μία κατηγορία που περιλαμβάνει μία ευρεία κατηγορία χημικών ενώσεων που στοχοποιούν βακτηριακά ένζυμα που εμπλέκονται στην τροποποίηση και καταστροφή των

αντιβιοτικών. Οι αναστολείς τροποποιητικών ενζύμων χρησιμοποιούνται με σκοπό να διασπάσουν τα τροποποιητικά ένζυμα των μικροοργανισμών, αυξάνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα των συγχορηγούμενων αντιβιοτικών.²³

✓ Διαπερατές μεμβρανών

Εκτός της καταστροφής της κυτταρικής μεμβράνης, αρκετές άλλες μέθοδοι έχουν προταθεί ώστε να αυξηθεί η εισροή των αντιβιοτικών στα κύτταρα των μικροοργανισμών. Η χρήση διαπερατών μεμβρανών καθιστά την εξωτερική μεμβράνη των Gram αρνητικών βακτηρίων περισσότερο διαπερατή προκειμένου να διευκολυνθεί η εισροή των αντιβιοτικών. Οι διαπερατές μεμβρανών δρουν μέσω χηλοποίησης και απομάκρυνσης δισθενών κατιόντων από την εξωτερική μεμβράνη, προκαλώντας έτσι καταστροφή της δομής της εξωτερικής μεμβράνης. Εκτός της χρήσης για μεγαλύτερη εισροή των αντιβιοτικών, οι διαπερατές μεμβρανών μπορούν από μόνοι τους να προκαλέσουν κυτταρική λύση, χωρίς την χρήση αντιβιοτικών.²³

✓ Αναστολείς αντλιών εκροής

Οι αντλίες εκροής δρουν με σκοπό να μειώσουν την ενδοκυτταρική συγκέντρωση αντιβιοτικών μέσω της άντλησης των αντιβιοτικών εκτός του βακτηριακού κυττάρου. Με αυτόν τον τρόπο οι αντλίες εκροής μειώνουν την δραστηριότητα του αντιβιοτικού. Οι αντλίες εκροής βρίσκονται σε πολλά προκαρυωτικά είδη καθώς και σε κατώτερα και ανώτερα ευκαρυωτικά είδη. Η κύρια τους λειτουργία είναι η εξώθηση αχρείαστων ουσιών από τα κύτταρα. Οι άχρηστες ουσίες μπορεί να είναι βαρέα μέταλλα, οργανικοί διαλύτες και βιοκτόνα, επιπρόσθετα των αντιβιοτικών.

Ως απάντηση στις αντλίες εκροής, αναπτύχθηκαν αναστολείς έναντι σε αυτές. Οι αναστολείς των αντλιών εκροής δεν είναι ακόμα έτοιμη για κλινική χρήση, καθώς έχει βρεθεί ότι πολλές φορές μπορεί να δρουν και έναντι των αντιβιοτικών. Για τον λόγο αυτό, ο σχεδιασμός μικρών μορίων, ικανών για ειδική πρόσδεση στον υποκινητή των γονιδίων που κωδικοποιούν μεταφορείς αντλιών, μπορεί να λύσει το πρόβλημα μέσω της άμεσης διακοπής της έκφρασης των αντλιών εκροής. Εναλλακτικά, ομοιοπολικά τροποποιημένα αντιβιοτικά με ικανότητα αναστολής των αντλιών εκροής μπορεί να προσφέρουν μία ικανοποιητική λύση έναντι στην ανταγωνιστική πρόσδεση που αναφέρθηκε προηγουμένως, και άρα να βελτιώσουν την αποτελεσματικότητα του αντιβιοτικού.²³ (εικόνα 10)

6.3 Αντιμετώπιση μέσω αντιβιοτικών ανοσοενισχυτών

Τα ανοσοενισχυτικά είναι ουσίες που δεν σκοτώνουν άμεσα τους μικροοργανισμούς, αλλά ενισχύουν την δράση των αντιβιοτικών. Οι ουσίες αυτές ενισχύουν την δράση των αντιβιοτικών μέσω αποκλεισμού της αντίστασης έναντι σε αυτά, με ενίσχυση της διαπερατότητας ενδοκυτταρικά ή μέσω ενίσχυσης της αντίδρασης του ξενιστή έναντι στην λοίμωξη. Οι στρατηγικές που χρησιμοποιούν την δράση των ανοσοενισχυτικών, έχουν δυναμικά την ικανότητα να μειώσουν την ποσότητα φαρμάκου που χρειάζεται για θεραπεία και να καθυστερήσουν την εξέλιξη της ανθεκτικότητας.²⁴

✓ Αναστολή δημιουργίας βιοφίλμ

Το βιοφίλμ είναι μία κολλώδης ουσία που συντίθεται από πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες που εκφράζονται από τα βακτήρια και σχετίζεται με μία μεγάλη ποικιλία μικροβιακών λοιμώξεων, όπως είναι η κολπίτιδα και λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος. Το βιοφίλμ έχει την ικανότητα να δημιουργεί ένα φυσικό φραγμό ή να αλλάζει το χημικό μικροπεριβάλλον των μικροοργανισμών προκειμένου να ανταγωνιστεί την δράση των αντιβιοτικών. Επομένως, η αναστολή δημιουργίας του βιοφίλμ ή η καταστροφή του αποτελεί μία υποσχόμενη μέθοδο για αποτελεσματικότερη δράση των αντιβιοτικών. Για παράδειγμα, η τρικλοσάνη είναι ένα αντιμικροβιακό ευρέως φάσματος που αναστέλει την σύνθεση λιπαρών οξέων σε διάφορα είδη βακτηρίων. Ως αποτέλεσμα της δράσης της, το βιοφίλμ δεν μπορεί να δημιουργηθεί.²⁴

✓ Συμπληρωματικοί μηχανισμοί με ικανότητα βακτηριοκτόνου

Οι μηχανισμοί που έχουν την ικανότητα να εξαλείφουν τα βακτήρια και χρησιμοποιούνται ως στόχοι από τα διαθέσιμα αντιβιοτικά, εμπλέκονται στην βιοσύνθεση κυτταρικού τοιχώματος, πρωτεϊνών και λιπαρών οξέων, στον μεταβολισμό του φολικού οξέως, στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA καθώς και στην σύνθεση της κυτταρικής μεμβράνης. Τα περισσότερα αντιβιοτικά έχουν μόνο ένα μοριακό στόχο. Ωστόσο, ο συνδυασμός παραπάνω από ενός στόχου, έχει βρεθεί ότι μειώνει την συχνότητα αντίστασης μέσω μετάλλαξης συγκεκριμένου γονιδίου στα βακτήρια. Επομένως, ο συνδυασμός δύο σκευασμάτων που θα διαθέτουν συμπληρωματική βακτηριοκτόνα δράση, όπως για παράδειγμα η αλυσιδωτή αναστολή της βιοσύνθεσης, μειώνουν την ανθεκτικότητα και ενισχύουν την αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών.²⁴

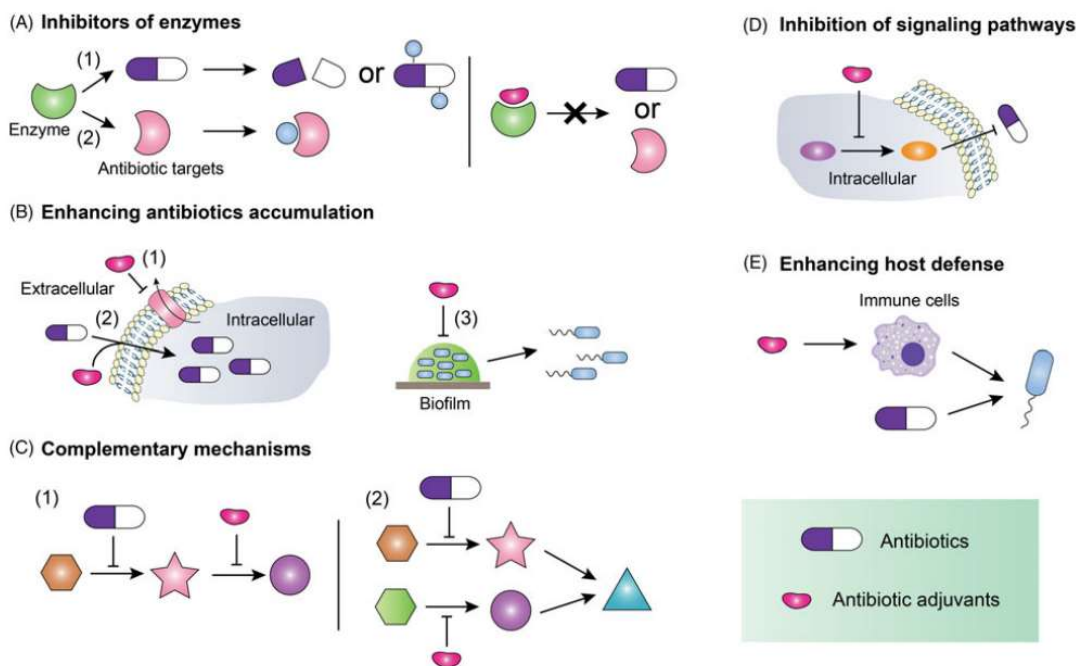
✓ Αναστολή σηματοδοτικών και ρυθμιστικών οδών

Οι μικροοργανισμοί, προκειμένου να βελτιώσουν την αντίστασή τους έναντι στα αντιβιοτικά, έχουν εξελίξει κάποιες σηματοδοτικές και ρυθμιστικές οδούς, ώστε να αναγνωρίζουν τα αντιβιοτικά του περιβάλλοντός τους και να ενεργοποιούν τον σωστό μηχανισμό ανθεκτικότητας. Για παράδειγμα, η πρωτεΐνη RecA εμπλέκεται στην επιδιόρθωση του DNA, στην έναρξη του σήματος SOS, στην οριζόντια μεταφορά γονιδίων καθώς και στην δημιουργία βιοφίλμ και άρα είναι ένας υποσχόμενος στόχος μείωσης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά.²⁴

✓ Ενίσχυση της άμυνας του ξενιστή

Έχει βρεθεί ότι η συμβατική προσέγγιση της απευθείας στόχευσης του παθογόνου μικροοργανισμού με το αντιβιοτικό δεν γίνεται να αντισταθμίσει τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας των μικροοργανισμών. Δεδομένου ότι όσο πιο δυνατό το ανθρώπινο ανοσοποιητικό σύστημα, τόσο μεγαλύτερες πιθανότητες υπάρχουν για καταπολέμηση των λοιμώξεων με ανθεκτικά στα αντιβιοτικά βακτήρια, μία νέα τακτική διαφαίνεται. Η δημιουργία νέων σκευασμάτων που έχουν την ικανότητα να τροποποιούν τα κύτταρα του ξενιστή ώστε να αποκρίνονται με αποτέλεσμα να εξαλείφουν το παθογόνο, είναι πολλά υποσχόμενη. Η τακτική αυτή, συνδυασμένη με τα συμβατικά αντιβιοτικά είναι λιγότερο πιθανό να δημιουργήσει μικροβιακή ανθεκτικότητα σε σύγκριση με την συμβατική τακτική απευθείας στόχευσης του παθογόνου με το αντιβιοτικό. Ωστόσο, για την εφαρμογή της τεχνικής αυτής είναι απαραίτητος ο έλεγχος της διέγερσης του ανοσοβιολογικού συστήματος, για να αποφευχθεί πιθανή υπερδιέγερσή του.²⁴

Παράδειγμα της κατηγορίας αυτής, είναι η χρήση των ανοσοτροποποιητικών πεπτιδίων όπως το πεπτίδιο LL-37 το οποίο μπορεί να ενισχύσει τη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος έναντι των μικροοργανισμών μέσω θετικής ρύθμισης της αντιμικροβιακής απόκρισης των ουδετερόφιλων και της αρνητικής ρύθμισης των προφλεγμονώδων κυτοκινών και της ιντερφερόνης γ.²⁴ (εικόνα 10)



Εικόνα 11 Σχηματική απεικόνιση των μηχανισμών δράσεων των ανοσοενισχυτών και των φραγμών έναντι της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. (Α) Αναστολέας της υδρολάσης/ τροποποιητικού ενζύμου των αντιβιοτικών (1) στόχοι αντιβιοτικών (2). (Β) Ενίσχυση της ενδοκυτταρικής διέλευσης των αντιβιοτικών μέσω αναστολέων αντλιών εκροής (1), Διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης (2) καταστροφή του βιοφίλμ (3) (Δ) Αναστολή των οδών σηματοδότησης και ρύθμισης που προάγουν την ανθεκτικότητα (Ε) Ενίσχυση της άμυνας του ξενιστή μέσω ενεργοποίησης των ανοσοποιητικών κυττάρων

✓ Αναστολείς βιοσύνθεσης τειχοϊκών οξέων

Τα τειχοϊκά οξέα αποτελούν στοιχείο των Gram θετικών κυττάρων και είναι συστατικό του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Τα οξέα αυτά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά την διαίρεση του κυττάρου, την δημιουργία αποικιών και κατά τη διαδικασία σύνθεσης της πεπτιδογλυκάνης. Επίσης, είναι παράγοντας ανθεκτικότητας των βακτηρίων, καθώς τους αποδίδουν ανθεκτικότητα β-λακτάμης. Τα κύτταρα που δεν συνθέτουν τειχοϊκά οξέα δεν κάνουν αποτελεσματική διαίρεση και παρουσιάζουν μειωμένη τοξικότητα. Εκτός από τους αναστολείς των τειχοϊκών οξέων, οι αναστολείς σύνθεσης λιποτειχοϊκών οξέων θα μπορούσαν να είναι κατάλληλος στόχος στο βακτηριακό κύτταρο. Τα οξέα αυτά διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαίρεση και αναστολή τους οδηγεί σε βλάβη του μηχανισμού της κυτταρικής διαίρεσης.²⁵



Εικόνα 12 Το σύνολο δράσης των ανοσοενισχυτών.

6.4 Βελτίωση της χρήσης των ήδη υπαρχόντων αντιβιοτικών

Η μείωση της αναίτιας χρήσης των αντιβιοτικών καθώς και η λανθασμένη συνταγογράφηση αντιβιοτικών αποτελούν βασικά μέτρα προκειμένου να μειωθεί το φαινόμενο της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Τα παραπάνω μέτρα αποτελούν βασικές τακτικές των προγραμμάτων παρακολούθησης των αντιβιοτικών μαζί με μέτρα όπως πολιτικές και οδηγίες που σκοπό έχουν να βελτιώσουν την χρήση των αντιβιοτικών. Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει ότι η παγκόσμια χρήση αντιβιοτικών έχει αυξηθεί ενώ η ακατάλληλη συνταγογράφηση παραμένει συχνό φαινόμενο. Εκτιμάται ότι η μη αναγκαία συνταγογράφηση αντιμικροβιακών φτάνει το ποσοστό του 50%.²⁶

✓ Μικροβιολογική διάγνωση

Η αναγνώριση των βακτηρίων που είναι υπεύθυνα για τις λοιμώξεις είναι αναγκαία προκειμένου να υπάρχει σωστή συνταγογράφηση αντιβιοτικού. Ωστόσο, οι διαγνώσεις μέσω των κλασσικών τεχνικών της καλλιέργειας συνήθως αργούν παραπάνω από 48 ώρες να δώσουν αποτέλεσμα. Λόγω της καθυστέρησης αυτής, οι γιατροί συνήθως προχωρούν σε εμπειρική συνταγογράφηση με αποτέλεσμα να μην καταπολεμείται αποτελεσματικά ο μικροοργανισμός που προκαλεί την νόσο, ο οποίος μπορεί να μην είναι καν βακτήριο. Τακτικές ταχείας ανίχνευσης μικροοργανισμών και δοκιμές αντιμικροβιακής ευαισθησίας μπορούν να δώσουν αποτελέσματα πολύ γρήγορα (λεπτά-μερικές ώρες) με αποτέλεσμα να αποφεύγεται η χρονοβόρα διαδικασία των καλλιιεργειών. Η γνώση του μικροοργανισμού που είναι υπεύθυνος για την νόσο, καθώς και η γνώση σχετικά με το αν αυτός ο μικροοργανισμός εμφανίζει ανθεκτικότητα σε αντιμικροβιακά καθιστούν εφικτή την κατάλληλη επιλογή φαρμακευτικού σκευάσματος καθώς και τον ορισμό της κατάλληλης διάρκειας θεραπείας.²⁷

✓ Δείκτες φλεγμονής-καθοδηγούμενες θεραπείες

Σε κάποιες περιπτώσεις είναι δύσκολη η διαφορική διάγνωση μεταξύ βακτηριακής ή ιικής λοίμωξης και κάποιας μη λοιμώδους φλεγμονώδους διαταραχής. Για αυτό το λόγο, η συνταγογράφηση αντιβιοτικών έναντι ιών ή διαταραχών που δεν προκαλούνται από κάποιο μικροοργανισμό είναι συχνό φαινόμενο. Το φαινόμενο αυτό εντοπίζεται κυρίως σε λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, που αποτελούν συχνή ένδειξη για αντιβιοτική θεραπεία, αλλά συνήθως οφείλονται σε ιική λοίμωξη. Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει την χρησιμότητα των δεικτών φλεγμονής, που μπορούν να βοηθήσουν στον διαχωρισμό μεταξύ

των παραπάνω αιτιών που προκαλούν ασθένεια, και άρα να μειώσουν τον κίνδυνο αναίτιας συνταγογράφησης αντιβιοτικών. Μεταξύ των διαγνωστικών βιοδεικτών είναι οι κυτταρικοί δείκτες όπως για παράδειγμα οι δείκτες επιφανείας των λευκοκυττάρων (CD35 και CD64 που αναφέρονται σε έκφραση ουδετερόφιλων) και η χρήση διαλυτών βιοδεικτών όπως για παράδειγμα η πρωτεΐνη CRP, οι κυτοκίνες, όπως για παράδειγμα οι ιντερλευκίνες, και δείκτες ενεργοποίησης μακροφάγων όπως για παράδειγμα η νεοπτερίνη. Νέες διαγνωστικές τεχνικές που εξετάζουν την αντίδραση του ξενιστή μέσω της ανίχνευσης της έκφρασης γονιδίων στο περιφερικό αίμα του ασθενούς, μέσω της ποσοτικοποίησης των μεταγραφωμάτων του mRNA, φαίνονται πολλά υποσχόμενες.²⁶

- ✓ Επιλογή αντιβιοτικού με την μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης ανθεκτικότητας

Η ομοιόμορφη χρήση αντιβιοτικών, δηλαδή η χρήση περιορισμένων ουσιών ή τάξεων αντιβιοτικών, μπορεί να οδηγήσει στην αύξηση της αντιμικροβιακής ανθεκτικότητας. Επίσης, η χρήση κάποιων τάξεων αντιβιοτικών φέρουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών βακτηρίων. Το 2017, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας παρουσίασε την κατηγοριοποίηση των αντιβιοτικών, το πρόγραμμα Access, Watch and Reserve (AWaRe), με σκοπό να αποτελέσει ένα εργαλείο με το οποίο η χρήση των αντιβιοτικών να είναι ασφαλής και αποτελεσματική. Με το πρόγραμμα αυτό, τα αντιβιοτικά χωρίστηκαν σε τρεις κατηγορίες, ανάλογα με τα πλεονεκτήματά τους, τα μειονεκτήματά τους καθώς και την πιθανότητα να εμφανίσουν και να προάγουν ανθεκτικότητα. Απώτερος σκοπός της κατηγοριοποίησης αυτής είναι να μειωθεί η χρήση αντιβιοτικών που εμφανίζουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανθεκτικότητας.²⁶

- ✓ Επιλογή σωστής δοσολογίας αντιβιοτικού και οδού χορήγησης

Παρόλο που οι περισσότερες οδηγίες αφορούν στην επιλογή του αντιβιοτικού, σημαντική είναι και η δοσολογία του, καθώς και ο τρόπος χορήγησής του, ώστε να ενεργοποιηθούν φαρμακοκινητικοί και φαρμακοδυναμικοί στόχοι χωρίς όμως να προκληθεί τοξικότητα λόγω υπερδοσολογίας. Μη βέλτιστη συγκέντρωση αντιβιοτικού έχει συσχετιστεί με κακή έκβαση θεραπείας, προκαλεί μη θανατηφόρα πίεση στους μικροοργανισμούς και αποτελεί παράγοντα εμφάνισης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Οι μελέτες στην συγκεκριμένη περίπτωση δεν εμφανίζουν σύμπτια απόψεων, καθώς κάποιες μελέτες έχουν αναδείξει ότι μεγάλη δόση αντιβιοτικού εξ αρχής έχει αποτελεσματικότητα ενώ άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι η σταθερή και παρατεταμένη έγχυση αντιβιοτικών έχει αντίστοιχα θετικά

αποτελέσματα. Και στις δύο περιπτώσεις όμως, η παρακολούθηση των φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών στόχων είναι καίριας σημασίας καθώς και η παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας των φαρμακευτικών σκευασμάτων είναι σημαντική ειδικά σε περιπτώσεις ατόμων με σοβαρή νόσο.²⁶

✓ Ανίχνευση γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, είναι σημαντικό για τους ασθενείς που νοσούν από σοβαρές βακτηριακές λοιμώξεις να χορηγούνται αποτελεσματικά αντιβιοτικά. Αυτό εξηγεί την ταχεία ανάπτυξη των διαγνωστικών μεθόδων που βασίζονται στην αναγνώριση γενωμικών στοιχείων που προβλέπουν αντίσταση στα αντιβιοτικά. Η ανίχνευση των γονιδίων μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η PCR, η αλληλούχιση και η ανάλυση του μεταγραφώματος προκειμένου να αναγνωριστούν γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά καθώς και συγκεκριμένες μεταλλάξεις. Οι τεχνικές αυτές δεν απαιτούν πάντα απομόνωση καθαρών βακτηριακών καλλεργειών και μπορούν να καθορίσουν την ύπαρξη γονιδίων ανθεκτικότητας με βιοδείκτες.²⁸

6.5 Εμβολιασμός

Με την έναρξη της χρήσης των εμβολίων, η παγκόσμια υγεία επωφελήθηκε άνευ προηγουμένου. Τα εμβόλια μπορούν να χρησιμοποιούνται για δεκαετίες και να παρουσιάζουν πολύ μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης ανθεκτικών στελεχών μικροοργανισμών συγκριτικά με την χρήση των αντιβιοτικών. Τα εμβόλια έχουν την δυνατότητα να μειώσουν το φαινόμενο ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά άμεσα και έμμεσα.²⁹

Ο εμβολιασμός ενάντια σε κάποιο παθογόνο βακτήριο μειώνει την πιθανότητα να εξελιχθεί ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά, καθώς το άτομο και να μολυνθεί δεν θα νοσήσει, επομένως δεν χρειάζεται η χρήση αντιβιοτικού. Επίσης, έχει αναδειχθεί η χρησιμότητα του εμβολιασμού σε ζώα παραγωγής τροφίμων, καθώς μειώνεται η νοσηρότητα που μπορεί να προκαλέσουν και άρα μειώνεται η χρήση αντιβιοτικών.²⁹

Επιπλέον, ο εμβολιασμός επηρεάζει έμμεσα την εμφάνιση ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, καθώς προλαμβάνει ιικές λοιμώξεις. Για παράδειγμα, τα εμβόλια έναντι της γρίπης έχουν μειώσει την ακατάλληλη χρήση αντιβιοτικών που συνταγογραφούνταν

λανθασμένα σε περιπτώσης νόσησης από γρίπη. Επίσης, μειώνεται η πιθανότητα δευτερογενών βακτηριακών λοιμώξεων που μπορεί να προκύψουν σε άτομα μολυσμένα με τον ιό της γρίπης.²⁹

Παράλληλα, έχει βρεθεί ότι τα εμβόλια πολλές φορές οδηγούν στην εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών, όπως για παράδειγμα η παγκόσμια εξάλειψη του ιού της ευλογιάς, και στην σχεδόν ολοκληρωτική εκρίζωση της πολυομυελίτιδας. Με την μείωση της νοσηρότητας λοιπόν, μειώνεται και η χρήση των αντιβιοτικών. Ωστόσο, δυστυχώς δεν έχουν αναπτυχθεί εμβόλια έναντι σημαντικών παθογόνων με ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά.²⁹

6.6 Θεραπεία με βακτηριοφάγους

Οι βακτηριοφάγοι είναι ιοί που προσβάλλουν βακτήρια και μπορούν να τροποποιηθούν γενετικά ώστε να διαθέτουν ένα φάσμα ενεργειών έναντι σε βακτηριακές δραστηριότητες.³⁰ Αντίθετα με τα αντιβιοτικά, των οποίων ο μηχανισμός δράσης είναι να στοχεύουν ένα ή περισσότερα στοιχεία των βακτηριακών κυττάρων, οι φάγοι διαθέτουν δικούς τους μηχανισμούς και είναι εξειδικευμένοι στην στόχευση των βακτηρίων.³¹ Χωρίς τον ξενιστή, οι ιοί δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν. Οι φάγοι μετά την πρόσδεσή τους στον μικροοργανισμό, χρησιμοποιούν το DNA του ξενιστή προκειμένου να συνθέσουν και να εκφράσουν τις ιικές πρωτεΐνες τους. Έπειτα, τα στοιχεία που συνέθεσε ο φάγος θα προκαλέσουν την λύση του βακτηριακού κυττάρου, προκειμένου να απελευθερωθούν οι νέοι βακτηριοφάγοι που έχουν δημιουργηθεί. Το φαινόμενο αυτό συνεχίζεται, μέχρι να προκληθεί λύση όλων των διαθέσιμων βακτηρίων.³¹ Λόγω της εξειδίκευσης των φάγων να στοχεύουν μόνο βακτηριακούς στόχους, το μικροβίωμα του ξενιστή δεν επηρεάζεται. Επίσης, η ασφάλεια που προσφέρουν οι φάγοι, η αποτελεσματικότητα καθώς και το ότι είναι φθηνότεροι από τα αντιβιοτικά τους καθιστούν μία αποτελεσματική λύση έναντι στην ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά.³⁰ Οι βακτηριοφάγοι έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικοί έναντι εγκαυμάτων, έναντι μολυσμένων πληγών, έναντι του διαβητικού ποδιού και σε θεραπείες έναντι συστηματικών λοιμώξεων που προκαλούνται από διάφορα παθογόνα. Η χορήγησή τους γίνεται τοπικά ή μέσω του στόματος.³¹ Ωστόσο, το μεγάλο ποσοστό εξειδίκευσής τους, η δυσκολία στην επιλογή του κατάλληλου φάγου καθώς και η δυσκολία

στον υπολογισμό της κατάλληλης δόσης είναι ανασταλτικοί παράγοντες για την γενικευμένη χρήση τους έναντι στις βακτηριακές λοιμώξεις.³⁰

6.7 Χρήση Νανοτεχνολογίας

Η επιστράτευση της νανοεπιστήμης και νανοτεχνολογίας έναντι στην ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά αποτελεί μία ρεαλιστική λύση στο παγκόσμιο αυτό πρόβλημα. Η ανάπτυξη και η μελέτη των συστημάτων μεταφοράς βιομορίων δίνει νέες πιθανότητες για την βελτίωση της αποτελεσματικότητας διαφορετικών θεραπευτικών σκευασμάτων για πολύπλοκες ασθένειες όπως για παράδειγμα ο καρκίνος, αυτοάνοσα νοσήματα ή προβλήματα που αφορούν στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Τα συστήματα μεταφοράς βιομορίων μπορούν να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα των φαρμακευτικών σκευασμάτων μέσω:

- 1) Αύξηση της σταθερότητας ή της διαλυτότητας των φαρμάκων
- 2) Βελτίωση της κινητικότητας
- 3) Μεταφοράς ενός φαρμάκου σε συγκεκριμένο κύτταρο, ιστό ή μόριο
- 4) Αύξησης της διαπερατότητας των φαρμάκων

Επίσης, έχει βρεθεί ότι οι νανομεταφορείς μπορούν να βελτιώσουν την συσσώρευση φαρμάκου κοντά σε λοιμώξεις, καθώς τα αγγεία του αίματος στις περιοχές της μόλυνσης συνήθως διαρρέουν. Με την βελτίωση των φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών παραγόντων, οι νανομεταφορείς έχουν την δυνατότητα να επαναφέρουν την χρήση αντιβιοτικών που σήμερα είναι αναποτελεσματικά έναντι σε μικροοργανισμούς.³²

Τα νανοςυστήματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε οργανικά και ανόργανα, με βάση το υπόστρωμά τους και τις ουσίες από τις οποίες αποτελούνται.

✓ Ανόργανα νανοςυστήματα

Είναι τα νανοςυστήματα που είναι κατασκευασμένα αποκλειστικά από ανόργανα οξείδια. Κατασκευάζονται με χημική αναγωγή μεταλλικών αλάτων, παρουσία αναγωγέα. Οι ιδιότητες αυτών των ουσιών επηρεάζονται από την θερμοκρασία και το pH στο περιβάλλον της αντίδρασης, κάτι που επηρεάζει την αποτελεσματικότητά τους.

✓ Οργανικά νανοςυστήματα

Όπως για παράδειγμα τα λιποσώματα, παρουσιάζουν εξαιρετικές δυνατότητες βιοδιάσπασης και οι βιολογικές ιδιότητές τους τα καθιστούν ασφαλή για κλινική χρήση.³³

6.7.1 Νανομεταφορείς με βάση τα λιπίδια

Οι νανομεταφορείς που έχουν ως βάση τα λιπίδια αποτελούν σημαντικό πεδίο έρευνας την τελευταία δεκαετία, ως εναλλακτική λύση στην μεταφορά διάφορων ουσιών, όπως πεπτίδια και πρωτεΐνες, λιποφιλικά και ευαίσθητες ενώσεις που εμφανίζουν προβλήματα βιολογικής σταθερότητας. Η δημιουργία φόρμουλας κατά την οποία τα αντιμικροβιακά ενθυλακώνονται σε λιπομεταφορείς, φέρει αρκετά πλεονεκτήματα όπως προστασία έναντι της απενεργοποίησης του αντιμικροβιακού, αύξηση της αντιβακτηριακής ενεργότητας, μείωση των παρενεργειών και της τοξικότητας.³⁴ (εικόνα 12, 13)

✓ Νανοςωματίδια στερεών λιπιδίων

Αυτά τα νανοςωματίδια συντίθενται από τριγλυκερίδια, γλυκερίδια, λιπαρά οξέα και στεροειδή. Τα πλεονεκτήματα των νανοςωματιδίων στερεών λιπιδίων συμπεριλαμβάνουν την ελεγχόμενη απελευθέρωση του φαρμάκου, την στοχευμένη μεταφορά τους και την αυξημένη σταθερότητα της φαρμακευτικής ουσίας.³⁴ Επίσης, λόγω της μειωμένης τοξικότητας που εμφανίζουν αλλά και λόγω της δυνατότητας παραγωγής τους σε μεγάλη κλίμακα χωρίς οικονομικό θέμα, τα νανοςωματίδια στερεών λιπιδίων αποτελούν μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο.³²

✓ Λιποσώματα

Τα λιποσώματα είναι κυστικά νανοςωματίδια, που συντίθενται από φωσφολιπιδικά στρώματα και έχουν εσωτερικά μία υδάτινη κοιλότητα.³⁴ Το εξωτερικό στρώμα των λιποσωμάτων είναι υδρόφοβο, και έτσι μιμείται την βιολογική μεμβράνη προκειμένου να προσδεθεί στις κυτταρικές μεμβράνες των παθογόνων μικροοργανισμών.³⁵ Τα λιποσώματα κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το μέγεθός τους και αναλόγως τα στρώματα που περιέχουν. Τα λιποσώματα χρησιμοποιούνται στην ιατρική, στην φαρμακευτική ως διαγνωστικά και θεραπευτικά μέσα, καθώς και στην βιομηχανία της αισθητικής. Ο εσωτερικός υδρόφιλος κορμός των λιποσωμάτων τα καθιστά ιδανικό περιβάλλον για την ενθυλάκωση αντιβιοτικών, ενώ η σύντηξη των λιποσωμάτων που μεταφέρουν αντιβιοτικά με την φωσφολιπιδική μεμβράνη των βακτηρίων έχει την ικανότητα να εξοντώνει Gram θετικά και αρνητικά βακτήρια. Λόγω της χημικής ομοιότητας των λιποσωμάτων με την βακτηριακή μεμβράνη, η σύντηξή τους δεν έχει ως αποτέλεσμα την άμεση διάρρηξη της μεμβράνης, αλλά έχει την ικανότητα να δημιουργεί πόρους που λειτουργούν ως κανάλια

μεταφορών. Έτσι, τα αντιβιοτικά μπορούν και διαπερνούν το κυτταρικό τοίχωμα των βακτηρίων.³⁴

6.7.2 Νανομεταφορείς με βάση πολυμερή

Τα πολυμερή διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στις εφαρμογές της φαρμακευτικής. Χρησιμοποιούνται ως έκδοχα στην παραγωγή φαρμάκων, ως παράγοντες σύζευξης για τις πρωτεΐνες και ως ένα μέρος των συστημάτων μεταφοράς φαρμάκων. Τα συστήματα μεταφοράς που βασίζονται σε πολυμερή αποτελούνται κυρίως από υδροφιλικούς και υδροφοβικούς τομείς. Το υδροφοβικό μέρος διαμορφώνει έναν πολυμερικό κορμό που περιέχει τα σκευάσματα, ενώ το υδροφιλικό μέρος προστατεύει τον κορμό από καταστροφή. Τα συστήματα που χρησιμοποιούν πολυμερή για μεταφορά φαρμάκων έχουν μοναδικά χαρακτηριστικά και πλεονεκτήματα. Οι δομές τους είναι σταθερές και το μέγεθός τους είναι ελεγχόμενο. Οι φυσιοχημικές ιδιότητες των πολυμερών μπορούν να επιλεγθούν με ακρίβεια, μέσω την επιλογή μήκους, πρωτεϊνών επιφανείας και οργανικών διαλυμάτων κατά την διαδικασία της δημιουργία τους.³⁴

Με βάση τα πλεονεκτήματα αυτά, η σύντηξη αντιβακτηριακών παραγόντων σε σωματίδια πολυμερών οδηγεί σε ελεγχόμενη απελευθέρωση των δεσμευμένων μορίων, βελτιώνοντας έτσι τις φαρμακοκινητικές ιδιότητες των αντιβιοτικών. Επίσης, οι μεταφορείς αυτοί έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν τις φαρμακευτικές ουσίες μέσω πολύ πυκνών ιστών, όπως τα βιοφίλμ που κατασκευάζουν τα βακτήρια.³⁴

Τα νανοσωμάτια πολυμερών μπορούν να απελευθερώσουν φάρμακα μέσω τριών μεθόδων. Οι μέθοδοι αυτοί είναι: διάχυση, χημική αλληλεπίδραση και επαγόμενη απελευθέρωση. Κατά την διάχυση, οι φαρμακευτικές ουσίες απελευθερώνονται ομοιόμορφα στον κορμό του πολυμερούς πριν την διάχυσή τους μέσω των μεμβρανικών πόρων. Μέσω των μεμβρανικών πόρων, γίνεται η διάχυση των ουσιών μέσω οσμωτικού ελέγχου που απελευθερώνει το φαρμακευτικό φορτίο από την μικρότερη στην μεγαλύτερη συγκέντρωση. Η απελευθέρωση των φαρμάκων σε διάφορους τύπους πολυμερών εξαρτάται από παράγοντες όπως το pH και η θερμοκρασία.³⁵

6.7.3 Νανοσωματίδια με μέταλλα

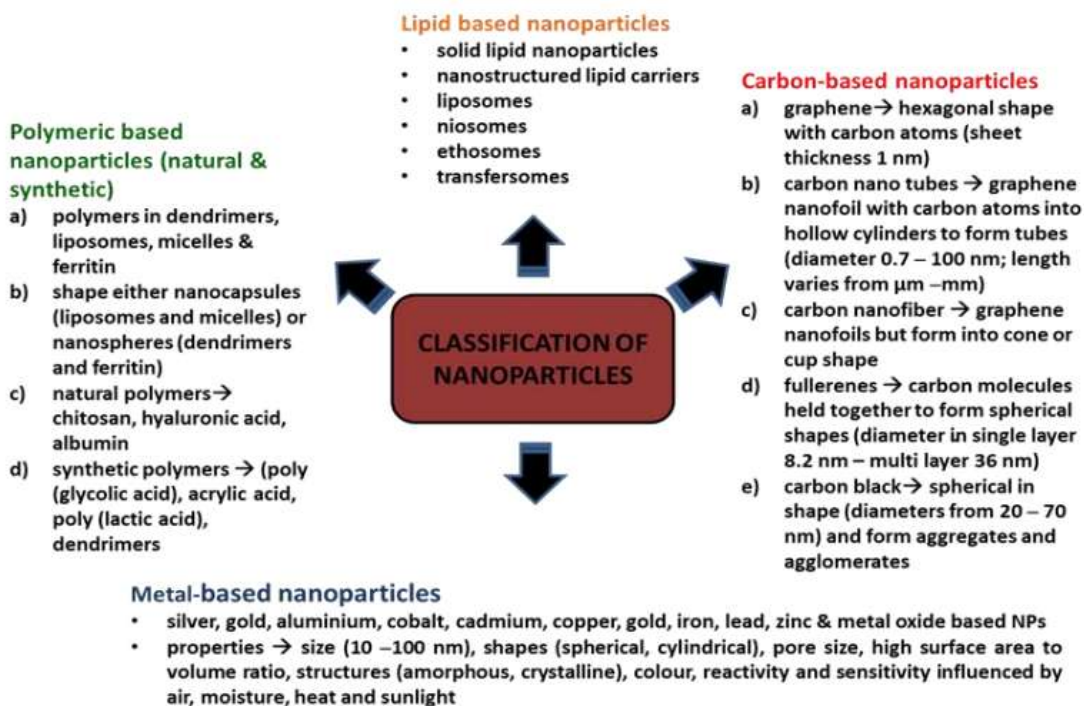
Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει την αποτελεσματικότητα νανοσωματίων που βασίζονται σε μέταλλα και σε μεταλλικά οξείδια. Αυτά τα νανοσωματίδια περιέχουν κυρίως χρυσό, ασήμι, ψευδάργυρο, χαλκό, νικέλιο, μαγνήσιο, τιτάνιο, αλουμίνιο και ασβέστιο. Η κάθε κατηγορία έχει ξεχωριστές ιδιότητες και μηχανισμούς έναντι σε βακτηριακές λοιμώξεις. Γενικά, οι μηχανισμοί τους εμπλέκονται με διαταραχή των μεταβολικών διαδικασιών της κυτταρικής μεμβράνης. Η ικανότητά τους να διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και να διακόπτουν ενζυμικές διαδικασίες, οδηγούν έτσι στον θάνατο του μικροοργανισμού. Επίσης, σε συνδυασμό με δραστικές ρίζες οξυγόνου μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στο DNA με συνέπεια τον κυτταρικό θάνατο. Παράλληλα, η σύνδεση του μεταλλικού νανοσωματίου, με την κυτταρική μεμβράνη μειώνει την ικανότητα του μικροοργανισμού να πολλαπλασιάζεται.³⁴

6.7.4 Νανοσωματίδια με άνθρακα

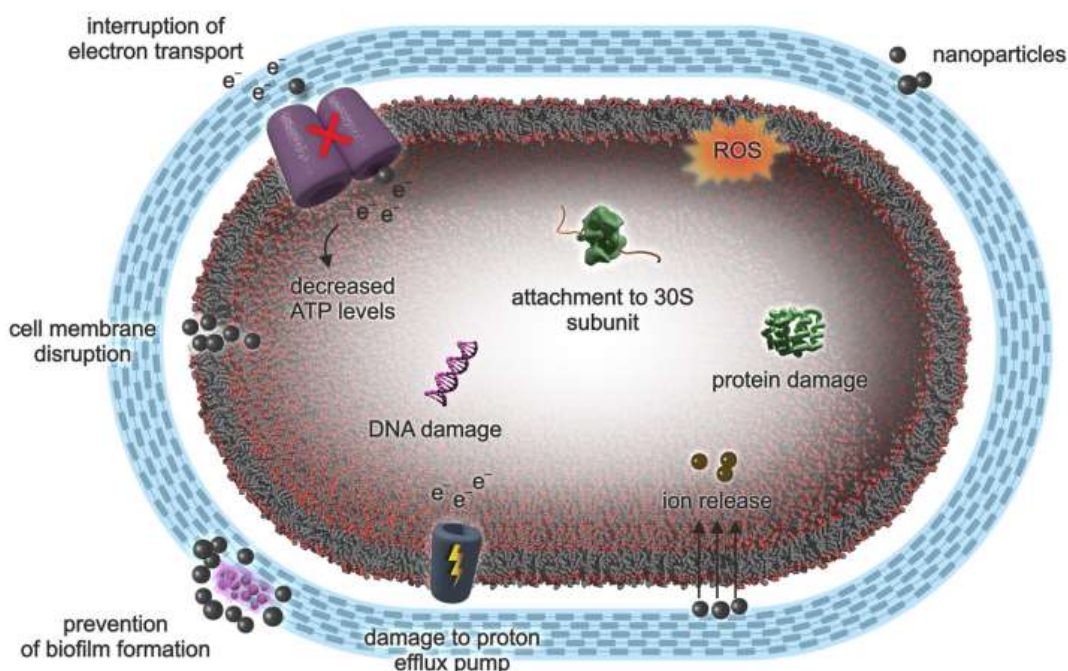
Τα νανοσωματίδια με άνθρακα αποτελούν σημαντικό τομέα του βιοιατρικού πεδίου, με εφαρμογές σε βιοαπεικονίσεις φθορισμού και βιοαισθητήρες. Τα νανοσωματίδια με άνθρακα παρουσιάζουν εξαιρετικές χημικές και μηχανικές ιδιότητες κυρίως λόγω των δεσμών μεταξύ ανθράκων. Οι δεσμοί αυτοί έχουν την ικανότητα υπό συγκεκριμένες συνθήκες να αυξάνουν την θερμική και ηλεκτρική τους αγωγιμότητα, να αυξήσουν την επιφάνειά με αποτέλεσμα να είναι πολύ σταθερά μόρια. Επίσης, σε συγκεκριμένες συνθήκες έχουν αυξημένη ικανότητα να διαπερνούν ενεργειακά εμπόδια παρόλο που αυτά μπορεί να διαθέτουν ενέργεια μεγαλύτερη από την συνολική των σωματιδίων. Αυτές οι ιδιότητες είναι βοηθητικές για μικροσκοπική παρατήρηση κυττάρων και ιστών με σκοπό την διάγνωση και την θεραπεία.

Κάθε κατηγορία νανοσωματιδίων με άνθρακα διαθέτει διαφορετικό μηχανισμό προκειμένου να μπορούν να παράγουν αντιμικροβιακές επιδράσεις ευρείας δράσης. Γενικά, τα ηλεκτρόνια στις κβαντικές κουκκίδες που απαρτίζουν τα νανοσωματίδια με άνθρακα μπορούν να μετακινούνται ελεύθερα μετά την έκθεση σε υπεριώδες φως. Η μετακίνηση μεταξύ των ηλεκτρονίων προκαλεί την απελευθέρωση ελεύθερων ριζών, που ως αποτέλεσμα προκαλεί οξειδωτικό στρες και κατ' επέκταση την καταστροφή κυτταρικών

στοιχείων των μικροοργανισμών. Με τον τρόπο αυτό, τα νανοσωματίδια με άνθρακα μπορούν να αποτελέσουν βάση παραγωγής θεραπευτικών σκευασμάτων.³⁵



Εικόνα 13 Κατηγορίες νανοσωματιδίων



Εικόνα 14 Μηχανισμοί δράσης νανοσωματιδίων

6.8 Γενετικές μέθοδοι βασισμένες στην τεχνολογία του CRISPR

Το CRISPR/Cas9 είναι μία τεχνολογία γονιδιωματικής επεξεργασίας που τα τελευταία χρόνια έχει προκαλέσει μεγάλη άνοδο στην βιοϊατρική έρευνα. Η τεχνολογία αυτή καθιστά δυνατή την επιδιόρθωση λαθών στο γονιδίωμα και μπορεί να ενεργοποιεί ή να απενεργοποιεί γονίδια σε κύτταρα και σε οργανισμούς με τρόπο γρήγορο, φθινό και σχετικά εύκολο. Η τεχνολογία του CRISPR/Cas9 στηρίζεται σε δύο βασικές δομές: ένα RNA-οδηγό, που ταιριάζει με το επιθυμητό γονίδιο-στόχο, και την ενδονουκλεάση Cas9 που προκαλεί ρήξη στην διπλή έλικα του DNA, επιτρέποντας έτσι να γίνουν τροποποιήσεις στο γενετικό υλικό. Πολλά βακτήρια, καθώς και τα περισσότερα αρχαία, προκειμένου να αντιμετωπίσουν την μόλυνση από βακτηριοφάγους και την μεταφορά πλασμιδίων, έχουν αναπτύξει ανοσοποιητικά συστήματα που κωδικοποιούνται από το γονιδιακό τόπο CRISPR και συνοδεύονται από την έκφραση Cas γονιδίων (συσχετιζόμενα με το CRISPR). Αρχικά, το σύστημα αυτό αναγνωρίστηκε στο γονιδίωμα της *E. Coli* ως παλινδρομικές επαναλήψεις που παρεμβάλλονται από μικρές αλληλουχίες DNA. Το CRISPR/Cas έπειτα βρέθηκε ότι είναι ένας μηχανισμός άμυνας έναντι στους ιούς που διακρίνεται σε τρία στάδια. Πρώτον, ικό ή πλασμιδιακό DNA εισβολέων ενεργοποιεί μικρά διαχωριστικά DNA που βρίσκονται στην αλληλουχία CRISPR μέσω πρωτεϊνών Cas. Αυτά τα τμήματα DNA αποτελούνται εξ' ολοκλήρου από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες. Έπειτα, μέσω της διαδικασίας της μεταγραφής, δημιουργούνται CRISPR RNAs (crRNAs), που μαζί με το συμπληρωματικό tracrRNA, δημιουργούν ένα διμερές. Τρίτον, το διμερές αυτό οδηγεί την πρωτεΐνη Cas στο DNA του εισβολέα προκαλώντας έτσι δίκλωνες θραύσεις στο DNA. Το γονιδίωμα του εισβολέα με αυτό τον τρόπο καταστρέφεται από την ενδονουκλεάση Cas.³⁶

Έπειτα από την κατανόηση του συστήματος CRISPR/Cas9, ήταν πλέον φανερό ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί η τεχνολογία αυτή για ακριβή γονιδιακή στόχευση σε οργανισμούς. Μετά την δίκλωνη θραύση από την Cas9, η οποία είναι μία καθοδηγούμενη από RNA, εύκολα προγραμματιζόμενη νουκλεάση, τα κύτταρα αποκρίνονται με την επιδιόρθωση του DNA, έχοντας ως επιλογές την μη ομόλογη ένωση των άκρων ή τον άμεσο ομόλογο ανασυνδυασμό. Και οι δύο αυτές μέθοδοι είναι επιρρεπής σε λάθη, έχοντας ως αποτέλεσμα διαγραφές ή προσθήκες. Εναλλακτικά, σε περίπτωση που υπάρχει κάποιο τμήμα DNA ομόλογο με την περιοχή που έγινε η θραύση, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βάση για την ομόλογη επιδιόρθωση. Αυτός ο τρόπος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να εισάγει αλλαγές στο γονιδίωμα.³⁷

Η τεχνολογία που αξιοποιεί τον μηχανισμό του γονιδίου CRISPR έχει πολυάριθμες εφαρμογές. (εικόνα 14). Ωστόσο, η εφαρμογή που εμφανίζει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον, είναι η εφαρμογή του κατά της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Καθώς η διαδικασία θραύσης από την πρωτεΐνη Cas9 δημιουργεί την πιθανότητα λάθους, έχει βρεθεί ότι σε συνδυασμό με την νανοτεχνολογία, αποτελεί μία μέθοδο εξαιρετικά χρήσιμη. Η πρόοδος που παρατηρείται στην επιστήμη της νανοτεχνολογίας, συνδυαστικά με την τεχνολογία καθοδηγούμενη από το CRISPR, μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα και την

ασφάλεια των στοιχείων του CRISPR/Cas9 με την χρήση ειδικά σχεδιασμένων συστημάτων νανοσωματιδίων μεταφοράς.³⁸

- ✓ Ενεργοποίηση συστημάτων CRISPR με ικανότητα ενάντια στην ανθεκτικότητα, μέσω οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς

Η τεχνική της οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς με ικανότητες μείωσης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που γίνεται σε συνδυασμό με το CRISPR περιλαμβάνει την συζευκτική μεταφορά μέσω πλασμιδίων και μέσω μεταθετών στοιχείων. Επίσης, επιστρατεύονται οι φάγοι, οι οποίοι μεταφέρουν CRISPR με γονίδια ενάντια στην ανθεκτικότητα, οι οποίοι ή θα εφαρμόσουν απλά τα γονίδια στο γονιδίωμα του ξενιστή ή θα προκαλέσουν την άμεση λύση του. Παράλληλα, η οριζόντια γονιδιακή μεταφορά περιλαμβάνει την χρήση τρανσποζονίων, που εκφράζουν μία σειρά γονιδίων και εφαρμόζουν το γενετικό τους υλικό τόσο στα πλασμίδια όσο και στο γονιδίωμα του ξενιστή, καθιστώντας τον έτσι ευαίσθητο στα αντιβιοτικά.³⁹

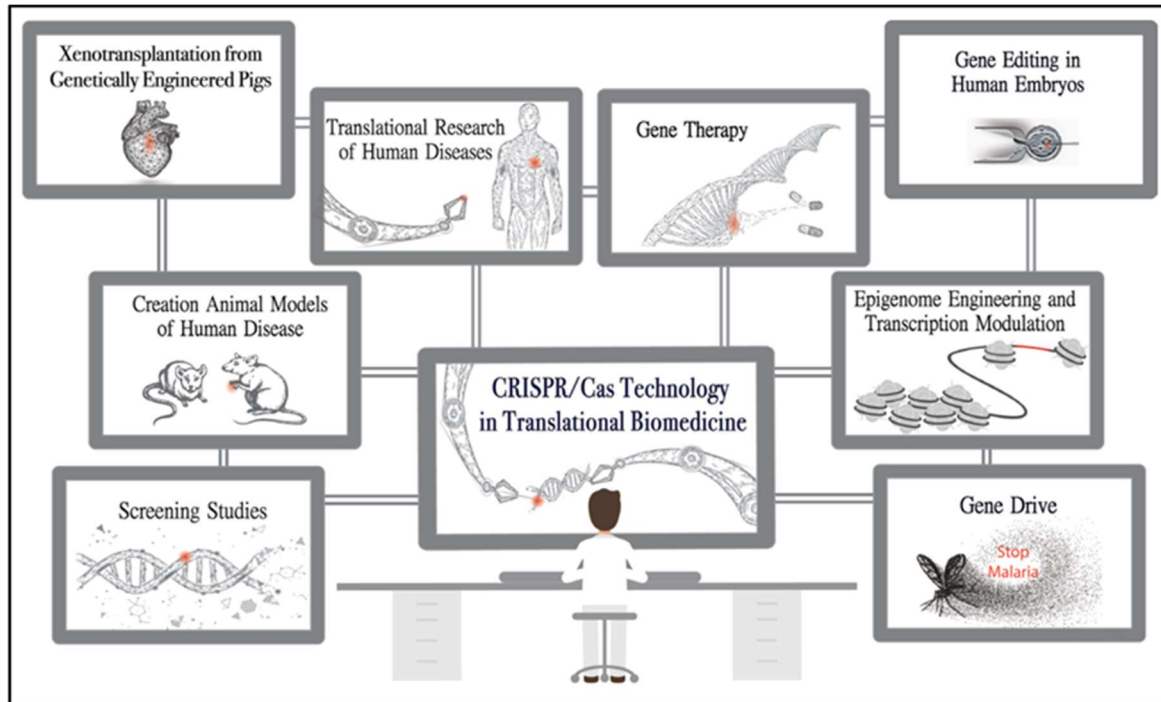
- ✓ Συνδυασμός μεθόδων

Αναλώσιμα συστήματα: τα γονίδια ενάντια της ανθεκτικότητας που περιέχει το CRISPR, μπορούν να μεταφερθούν μέσω συμβιωτικών πλασμιδίων και μέσω φάγων, με αποτέλεσμα να μειώσουν την εμφάνιση ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στα κύτταρα-στόχους.

Συνεργατικά συστήματα: τα γονίδια ενάντια της ανθεκτικότητας μεταφέρονται από φάγους ή από μεταθετά στοιχεία, που έχουν την ικανότητα να προκαλούν λύση σε μη λυσογενή βακτήρια που εκφράζουν τον υποδοχέα του φάγου.

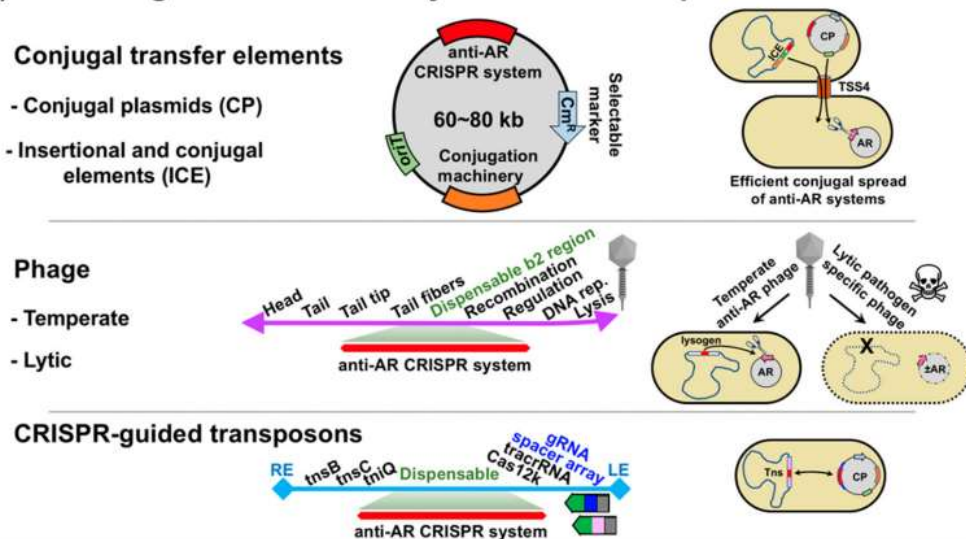
Συνεργικά συστήματα: τα συστήματα αυτά αποτελούνται από CRISPR που έχουν την ικανότητα μεταφοράς δύο ανεξάρτητων μεταξύ τους γονιδιακών στόχων. Για παράδειγμα, μία τέτοια αλληλουχία θα μπορούσε να περιέχει γονίδια που εκφράζουν εισαγωγή γονιδίων μέσω ενός RNA-οδηγού, σε πολλαπλά αντίγραφα και να διαθέτουν γονίδια που έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν μηχανισμούς ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά όπως για παράδειγμα τις συνεχώς ενεργοποιημένες αντλίες εκροής. (εικόνα 15)

Η τεχνολογία των συστημάτων CRISPR έχει πολυάριθμες εφαρμογές, τόσο στην ιατρική όσο και στο περιβάλλον. (εικόνα 16)³⁹

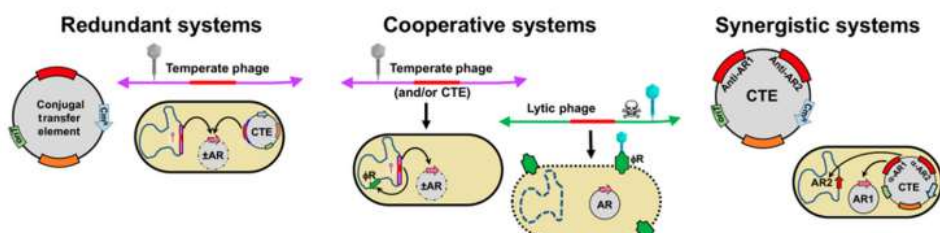


Εικόνα 15 Εφαρμογές της τεχνολογίας CRISPR/Cas στην ιατρική

(A) Mobilizing anti-AR CRISPR systems with HGT platforms

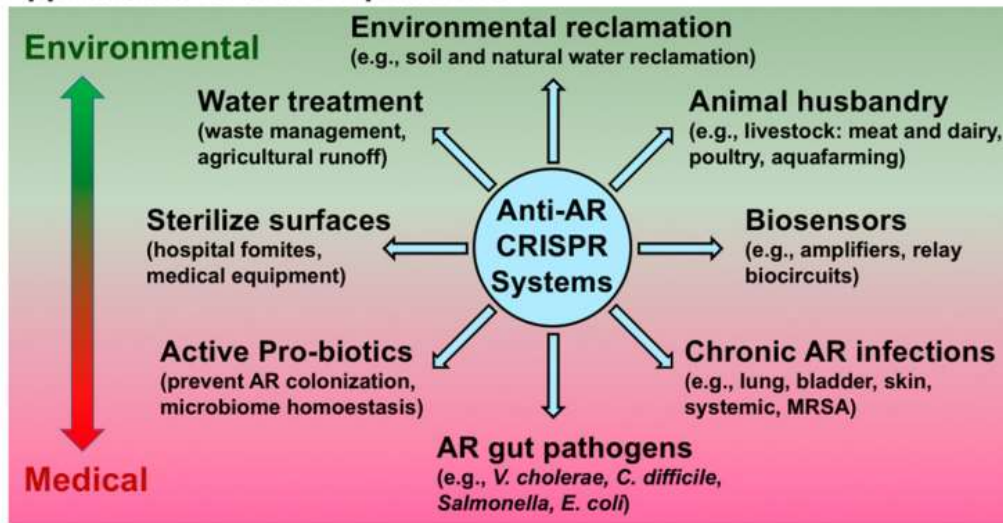


(B) Combination anti-AR platforms



Εικόνα 16 Μηχανισμοί δράσης τεχνολογίας CRISPR

(C) Applications of anti-AR platforms



Εικόνα 17 Εφαρμογές συστημάτων CRISPR αντι-ανθεκτικότητας στην ιατρική και στο περιβάλλον

7. Συμπεράσματα

Τα αντιβιοτικά αποτελούν μία αποτελεσματική μέθοδο θεραπείας έναντι σε μικροβιακές λοιμώξεις και έχουν διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην διάσωση δισεκατομμυρίων ζωών ανά τον κόσμο. Υπάρχουν πολλά αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται σε κλινικό επίπεδο που στοχοποιούν διάφορα τμήματα των μικροοργανισμών, προκειμένου να τα εξαλείψουν ή να μειώσουν την ανάπτυξή τους. Ωστόσο, οι μικροοργανισμοί συνεχώς αναπτύσσουν ανθεκτικότητα έναντι στα αντιβιοτικά, μέσω διάφορων ενδοκυτταρικών μηχανισμών (όπως οι μεταλλάξεις) και διάφορων εξωκυτταρικών διεργασιών (όπως μεταφορά γονιδίων). Ως αποτέλεσμα, υπάρχουν πολλοί τρόποι με τους οποίους οι μικροοργανισμοί αντιστέκονται στην δράση των αντιβιοτικών, όπως η υδρόλυση των αντιβιοτικών μέσω παραγόμενων ενζύμων, η αλλαγή του στόχου των αντιβιοτικών ή μέσω των αντλιών εκροής, που μπορούν να παρέχουν προστασία έναντι πολλαπλών ειδών αντιβιοτικών.

Η λανθασμένη χρήση των αντιβιοτικών, η ακατάλληλη συνταγογράφηση και η έλλειψη καινούριων αντιβιοτικών, έχει οδηγήσει στην εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών μικροοργανισμών που τείνουν να επικρατήσουν. Οι πιθανές επιπτώσεις των παραπάνω είναι η αποτυχία θεραπειών κοινών ασθενειών καθώς και η αποτυχία χειρουργικών διαδικασιών. Επίσης, θεραπείες για σοβαρές ασθένειες όπως ο καρκίνος επηρεάζονται αρνητικά ενώ η μεταμόσχευση οργάνων καθίσταται ακόμα πιο δύσκολη διαδικασία. Παράλληλα, οι οικονομικοί κίνδυνοι που προέρχονται από την ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά είναι σημαντικοί. Η έλλειψη ανάπτυξης νέων τεχνολογιών, εργαλείων και φαρμακευτικών σκευασμάτων αποτελούν ανασταλτικούς παράγοντες στην αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Κατά καιρούς, αρκετές στρατηγικές έχουν προταθεί προκειμένου να αντιμετωπιστεί το φαινόμενο της ανθεκτικότητας, όπως εκπαιδευτικά προγράμματα καθώς και καινοτόμα προγράμματα ευαισθητοποίησης των πολιτών, όμως η αποτελεσματικότητα των προσπαθειών τέτοιων προγραμμάτων και πολιτικών έγκειται στον συντονισμό της δράσης κλινικών ιατρών, ασθενών, κυβερνήσεων και διάφορων οργανισμών.

Η ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά μπορεί να αντιμετωπιστεί μέσω περιορισμένης χρήσης αντιβιοτικών, υπό την καθοδήγηση των ιατρών, μέσω της συλλογής επιδημιολογικών δεδομένων, μέσω συντονισμένων δράσεων όλων των εμπλεκόμενων

καθώς και μέσω μείωσης της χρήσης των αντιβιοτικών σε ζώα παραγωγής τροφίμων και σε αγροτικές καλλιέργειες. Παράλληλα, τεχνικές όπως οι φραγμοί ανθεκτικότητας, οι ανοσοενισχυτές, ο εμβολιασμός, η θεραπεία μέσω φάγων καθώς και η συμπληρωματική χρήση της νανοτεχνολογίας και της βιοτεχνολογίας δίνουν νέα πνοή στην διευθέτηση του παγκόσμιου προβλήματος ανθεκτικότητας έναντι στα αντιβιοτικά.

8. Βιβλιογραφία

1. Kourkouta L. et al, History of Antibiotics, Sumerianz Journal of Medical and Healthcare, 2018, Vol. 1, No. 2, pp. 51-54
2. Matthew I Hutchings, Andrew W Truman, Barrie Wilkinson, Antibiotics: past, present and future, Current Opinion in Microbiology, Volume 51, 2019, Pages 72-80, ISSN 1369-5274, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>.
3. Francine, P. Systems Biology: New Insight into Antibiotic Resistance. Microorganisms 2022, 10, 2362. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122362>
4. Shifa Begum et al, A review on antibiotic resistance and way of combating antimicrobial resistance, GSC Biological and Pharmaceutical Sciences, 2021, 14(02), 087–097, <https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.14.2.003>
5. Porooshat Dadgostar (2019) Antimicrobial Resistance: Implications and Costs, Infection and Drug Resistance, , 3903-3910, DOI: 10.2147/IDR.S234610
6. Samreen et al, Environmental antimicrobial resistance and its drivers: a potential threat to public health, Journal of Global Antimicrobial Resistance, Volume 27, 2021, Pages 101-111, ISSN 2213-7165, <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>.
7. Moo CL et al, Mechanisms of Antimicrobial Resistance (AMR) and Alternative Approaches to Overcome AMR. Curr Drug Discov Technol. 2020;17(4):430-447. doi: 10.2174/1570163816666190304122219
8. Manar Ali Abushaheen et al, Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance, Disease-a- Month, Volume 66, Issue 6, 2020, <https://doi.org/10.1016/j.disamonth.2020.100971>
9. Sarfraz Ahmed et al, Recent Approaches for Downplaying Antibiotic Resistance: Molecular Mechanisms, Hindawi BioMed Research International Volume 2023, Article ID 5250040, 27 pages <https://doi.org/10.1155/2023/5250040>
10. Chis, A.A et al, Microbial Resistance to Antibiotics and Effective Antibiotherapy. Biomedicines 2022, 10, 1121. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051121>
11. Thiruchelvi Pulingam et al, Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome, European Journal of Pharmaceutical Sciences, Volume 170, 2022, 106103, ISSN 0928-0987, <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.106103>

12. Bilal Aslam et al, Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis, *Infection and Drug Resistance* 2018;11 1645–1658
13. Martha Shawn Morehead, Catherine Scarbrough, Emergence of Global Antibiotic Resistance, *Prim Care Clin Office Pract* 45 (2018) 467–484
<https://doi.org/10.1016/j.pop.2018.05.006>
14. Partridge SR et al, Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance, 2018, *Clin Microbiol Rev* 31:e00088-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088-17>
15. Rad, A.K. et al, An Overview of Antibiotic Resistance and Abiotic Stresses Affecting Antimicrobial Resistance in Agricultural Soils. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2022, 19, 4666. <https://doi.org/10.3390/ijerph19084666>
16. Yujie Ben et al, Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review, *Environmental Research*, Volume 169, February 2019, p 483-493, <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040>
17. Costanzo, V.; Roviello, G.N. The Potential Role of Vaccines in Preventing Antimicrobial Resistance (AMR): An Update and Future Perspectives. *Vaccines* 2023, 11, 333. <https://doi.org/10.3390/vaccines11020333>
18. Fernando Baquero, Threats of antibiotic resistance: an obliged reappraisal, *International Microbiology* (2021) 24:499–506, <https://doi.org/10.1007/s10123-021-00184-y>
19. Nabil A Nimer (2022) Nosocomial Infection and Antibiotic-Resistant Threat in the Middle East, *Infection and Drug Resistance*, , 631-639, DOI: 10.2147/IDR.S351755
20. Kenneth E. Thorpe, Peter Joski, and Kenton J. Johnston, Antibiotic-Resistant Infection Treatment Costs Have Doubled Since 2002, Now Exceeding \$2 Billion Annually, *Health Affairs* April 2018 37:4, Doi: 10.1377/hlthaff.2017.1153 *HEALTH AFFAIRS* 37, NO. 4 (2018): 662–669
21. Naylor et al, Estimating the burden of antimicrobial resistance: a systematic literature review, *Antimicrobial Resistance and Infection Control* (2018) 7:58
<https://doi.org/10.1186/s13756-018-0336-y>
22. Mohammad Ahmad, Asad U. Khan, Global economic impact of antibiotic resistance: A review, *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 19 (2019) 313–316, <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.05.024>

23. Mark Laws et al, Antibiotic resistance breakers: current approaches and future directions, *FEMS Microbiology Reviews*, fuz014, 43, 2019, 490–516, doi: 10.1093/femsre/fuz014
24. Yuan Liu et al, Antibiotic adjuvants: an alternative approach to overcome multi-drug resistant Gram-negative bacteria, *Critical Reviews in Microbiology*, 2019, DOI: 10.1080/1040841X.2019.1599813
25. Geetika Dhanda et al, Antibiotic Adjuvants: A Versatile Approach to Combat Antibiotic Resistance, *ACS Omega* 2023, 8, 10757–10783, <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c00312>
26. Stefano Bassetti et al, Optimizing antibiotic therapies to reduce the risk of bacterial resistance, *European Journal of Internal Medicine* 99 (2022) 7–12, <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2022.01.029>
27. Tetz, G.; Tetz, V. Overcoming Antibiotic Resistance with Novel Paradigms of Antibiotic Selection. *Microorganisms* 2022, 10, 2383. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122383>
28. Feldgarden M et al, Validating the AMRFinder tool and resistance gene database by using antimicrobial resistance genotype-phenotype correlations in a collection of isolates. *Antimicrob Agents Chemother* (2019) 63:e00483-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.00483-19>.
29. Micoli, F., Bagnoli, F., Rappuoli, R. *et al.* The role of vaccines in combatting antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol* 19, 287–302 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00506-3>
30. Renu Gupta, Sangeeta Sharma, Role of alternatives to antibiotics in mitigating the antimicrobial resistance crisis, *Indian J Med Res* 156, September 2022, pp 464-477 DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_3514_20
31. Mbarga Manga Joseph Arsene et al, Short review on the potential alternatives to antibiotics in the era of antibiotic resistance, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 12(01), pp 029-040, January, 2022, DOI: 10.7324/JAPS.2021.120102
32. Arana, L.; Gallego, L.; Alkorta, I. Incorporation of Antibiotics into Solid Lipid Nanoparticles: A Promising Approach to Reduce Antibiotic Resistance Emergence. *Nanomaterials* 2021, 11, 1251. <https://doi.org/10.3390/nano11051251>

33. Ali Hazim Abdulkareem et al, Role of Potential Nanomaterials in Reducing Bacterial Resistance against Antibiotics (A Review), Annals of R.S.C.B, Vol. 25, Issue 4, 2021, Pages. 4023 – 4038
34. Bizhan Malaekheh-Nikouei et al, The role of nanotechnology in combating biofilm-based antibiotic resistance, Journal of Drug Delivery Science and Technology 60 (2020), <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101880>
35. Thambirajoo M, et al, Potential of Nanoparticles Integrated with Antibacterial Properties in Preventing Biofilm and Antibiotic Resistance. Antibiotics 2021, 10, 1338. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111338>
36. Atieh Hashemi, CRISPR–Cas System as a Genome Engineering Platform: Applications in Biomedicine and Biotechnology, Current Gene Therapy, February 2018, 18 DOI: 10.2174/1566523218666180221110627
37. Thurtle-Schmidt, D.M. and Lo, T.-W. (2018), Molecular biology at the cutting edge: A review on CRISPR/CAS9 gene editing for undergraduates. Biochem. Mol. Biol. Educ., 46: 195-205. <https://doi.org/10.1002/bmb.21108>
38. Wan, F. et al, Novel Strategy to Combat Antibiotic Resistance: A Sight into the Combination of CRISPR/Cas9 and Nanoparticles. Pharmaceutics 2021, 13, 352. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030352>
39. Ethan Bier, Driving to Safety: CRISPR-Based Genetic Approaches to Reducing Antibiotic Resistance, Trends in Genetics, Volume 37, Issue 8, P745-757, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.tig.2021.02.007>
40. One Health Commission. 2018. What is One Health? https://www.onehealthcommission.org/en/why_one_health/what_is_one_health/. Accessed January 3, 2017
41. European Parliament resolution of 27 October 2011 on the public health threat of antimicrobial resistance: <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//NONSGML+TA+P7-TA-2011-0473+0+DOC+PDF+V0//EN>.
42. European Commission. (2015). Progress Report on the Action Plan against the Rising Threats from Antimicrobial Resistance. European Commission, Brussels. World Health Organization (WHO). 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. WHO, Geneva, Switzerland

43. WHO (2019). WHO releases the 2019 AWaRe Classification Antibiotics. [online] www.who.int. Available at: <https://www.who.int/news/item/01-10-2019-whoreleases-the-2019-aware-classification-antibiotics>
44. The Editors of Encyclopedia Britannica (2019). Antibiotic | chemical compound. In: Encyclopædia Britannica. [online] Available at: <https://www.britannica.com/science/antibiotic>
45. WHO (2015). Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Microbe Magazine, 10(9), pp.354–355

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.