

ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΑΛΕΞΗ 10Α

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ, ΔΙΑΣΠΟΡΑ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ
ΑΝΑΣΧΕΣΗΣ

ΔΙΔΑΣΚΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ

Αντιβιοτικά

❑ Ορισμοί

- ❑ Οργανικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που παράγονται από μικροοργανισμούς και σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις παρεμποδίζουν άλλους μικροοργανισμούς με τους οποίους βρίσκονται σε γειτνίαση (Gottlieb 1967)
- ❑ Χημικά ετερογενείς οργανικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους που παράγονται από κάποιους μικροοργανισμούς για την πρόληψη της ανάπτυξης και της μεταβολικής δραστηριότητας άλλων μικροοργανισμών (Thomashow et al., 1997)
- ❑ Ουσίες που παράγονται από οποιαδήποτε μορφή ζωής (μικρόβια, φύκη, φυτά ή ζώα) που έχουν την ιδιότητα να παρεμποδίζουν άλλες μορφές ζωής σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Okafor 1987)
- ❑ Τα αντιβιοτικά είναι οργανικές ενώσεις, που παράγονται από δευτερογενή προϊόντα του μεταβολισμού μικροοργανισμών, ή συντίθενται τεχνητά ή ήμι – τεχνητά και χρησιμεύουν είτε στο θάνατο μικροοργανισμών είτε παρεμβαίνουν σε βασικές βιοχημικές διεργασίες του μεταβολισμού (Du et al., 2011)

Αντιμικροβιακά

❑ Ορισμοί

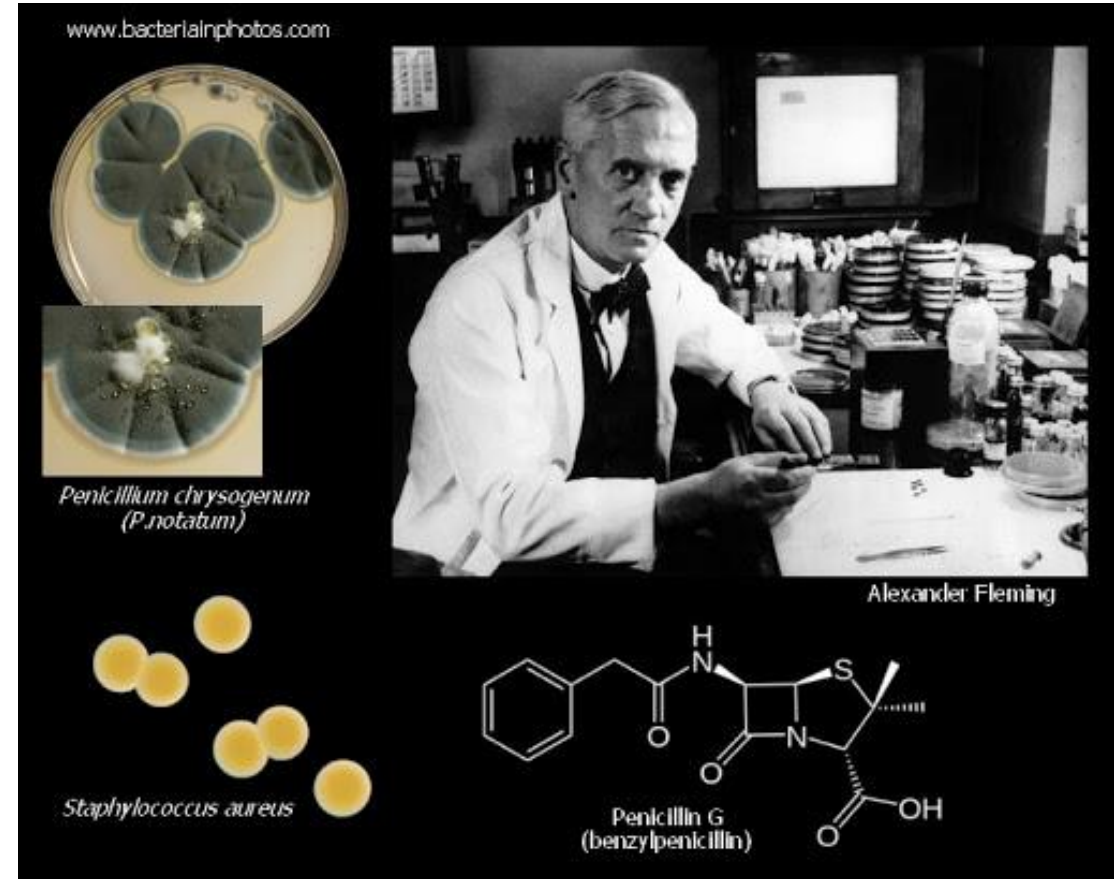
❑ Αντιμικροβιακά

- ❑ Ενεργές ουσίες συνθετικής ή φυσικής προέλευσης οι οποίες σκοτώνουν ή αναστέλλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών
- ❑ Χρησιμοποιούνται στην ιατρική στην κτηνιατρική, στη γεωργία, την κτηνοτροφία και την ιχθυοκαλλιέργεια και είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη και θεραπεία των λοιμώξεων στον άνθρωπο και στα ζώα
- ❑ Περιλαμβάνονται τα αντιβιοτικά, τα αντιικά, τα αντιμυκητιακά και τα αντιπρωτοζωικά

Αντιβιοτικά

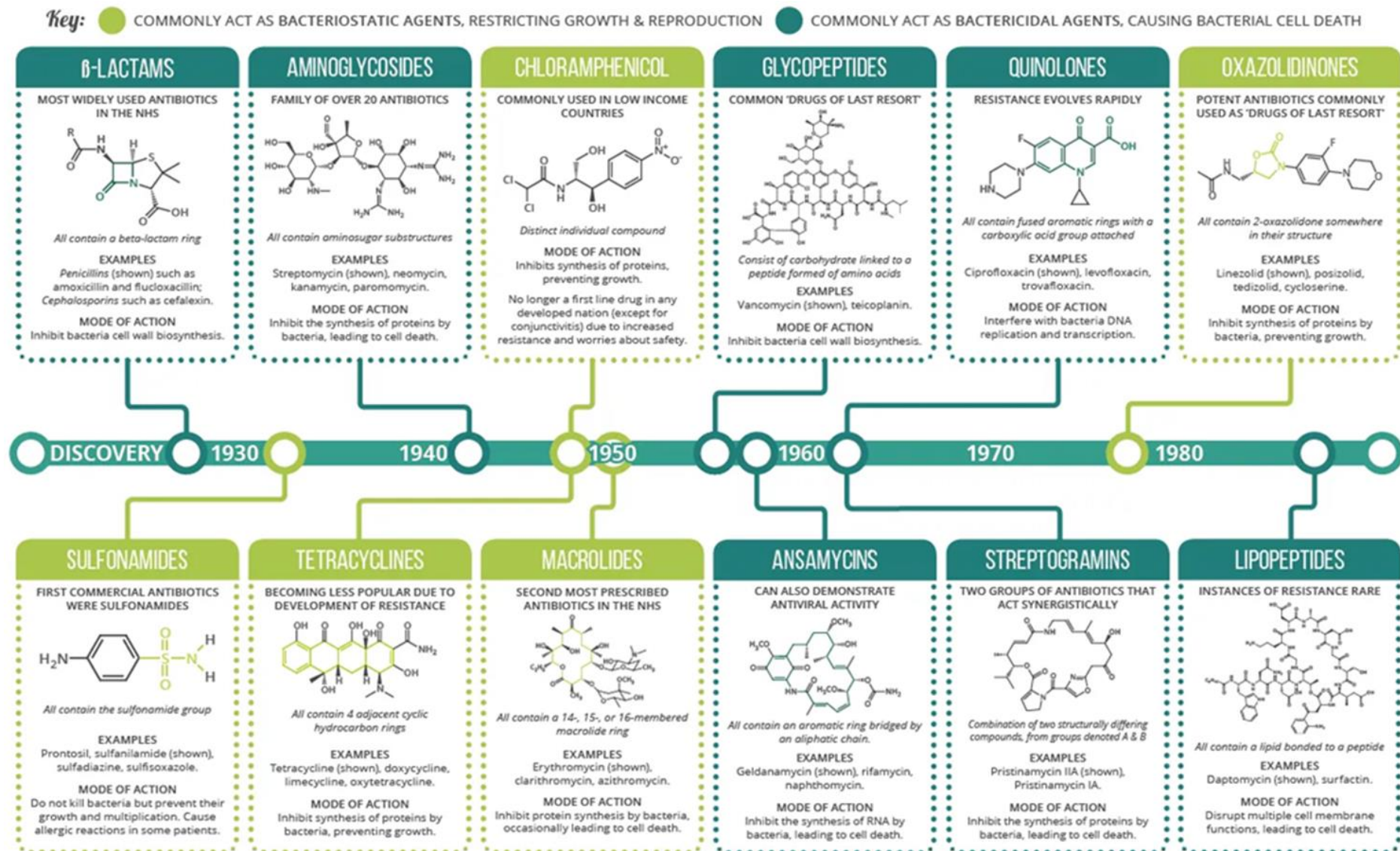
❑ Ιστορικά στοιχεία

- ❑ Η ανακάλυψη του πρώτου αντιβιοτικού έγινε κατά τύχη από τον Alexander Fleming το 1928
- ❑ Επιμόλυνση τρυβλίου που προορίζονταν για την καλλιέργεια του *Staphylococcus aureus* από μύκητα του γένους *Penicillium* και ανακάλυψη της πενικιλίνης
- ❑ Τη δεκαετία του 1930 ακολούθησε η ανακάλυψη των σουλφοναμιδίων και β-λακταμών
- ❑ 1944 στρεπτομυκίνη και φυματίωση
- ❑ Μέχρι το 1970 χρυσή εποχή για την ανακάλυψη των αντιβιοτικών – ανακάλυψη των περισσότερων κατηγοριών από τα γνωστά σήμερα αντιβιοτικά



Κατηγορίες αντιβιοτικών

- Τα αντιβιοτικά κατηγοριοποιούνται με βάσει διάφορα κριτήρια όπως ο ηχημική τους δομή, ο τρόπος δράσης τους, ο οργανισμός που τα παράγει και η πορεία της βιοσύνθεσης τους

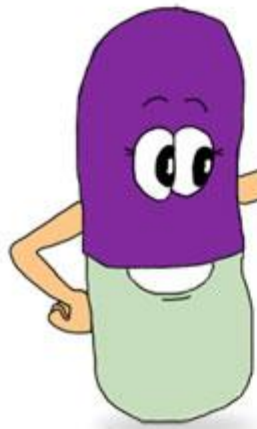


Αντιβιοτικά και μηχανισμοί δράσης

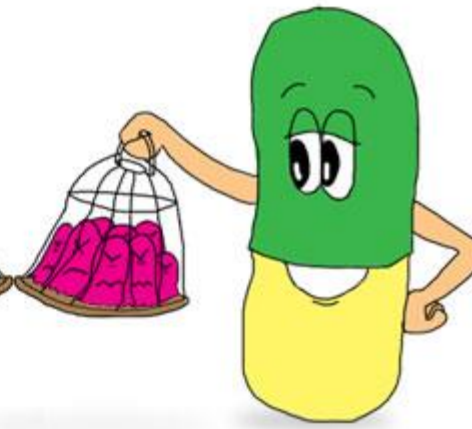
Βακτηριοστατικά

Βακτηριοκτόνα

EXAMPLES:
Carbapenems
Chloramphenicol
3rd generation fluoroquinolones
2nd, 3rd and 4th generation Cephalosporins
tetracyclines



EXAMPLES:
Penicillin
Lincosamides
Glycopeptides
streptogramins
Rifamycin



EXAMPLES:
Chloramphenicol
Erythromycin
Clindamycin
Sulfonamides
Trimethoprim
Tetracyclines



EXAMPLES:
Aminoglycosides
Beta-lactams
Vancomycin
Quinolones
Rifampin
Metronidazole



Ευρέος φάσματος

Περιορισμένου φάσματος

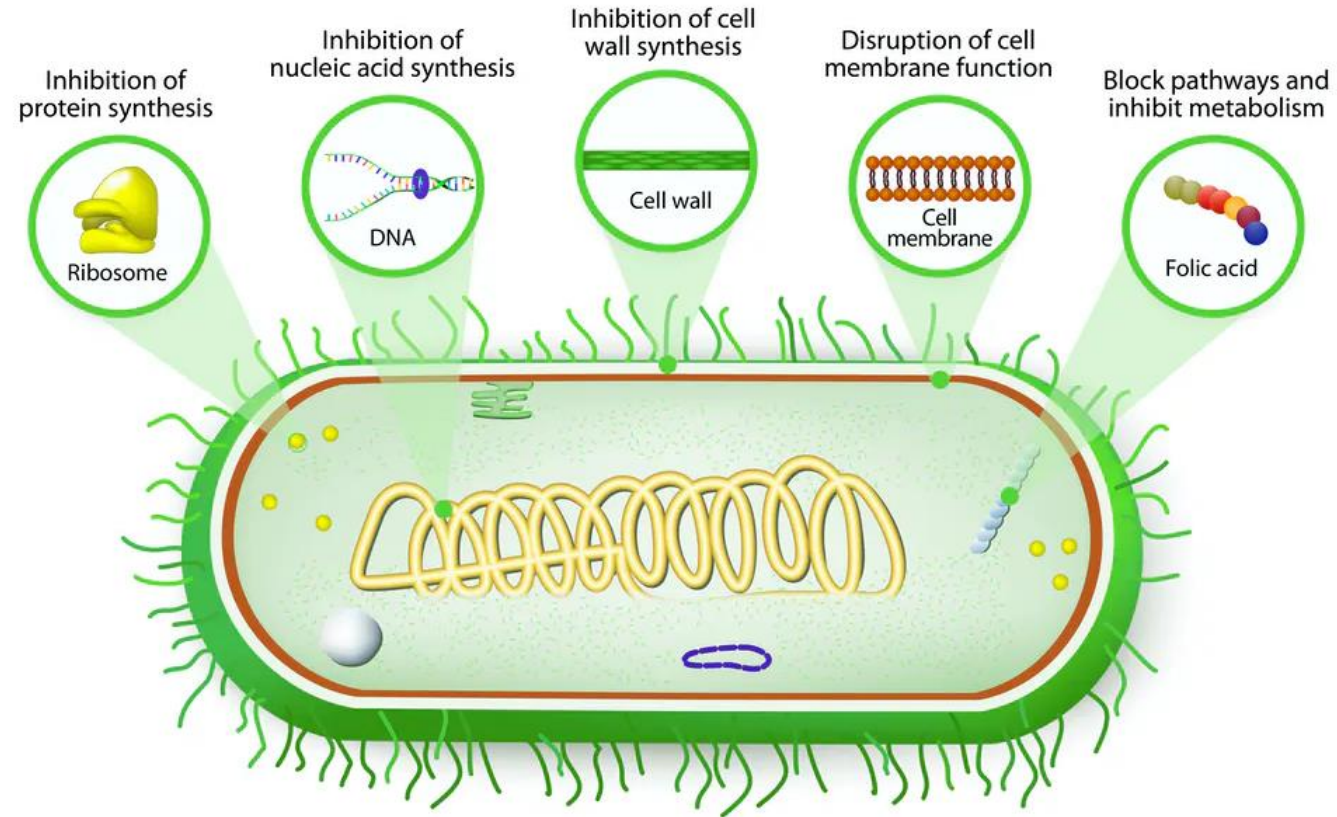
Εφαρμογές των αντιβιοτικών

- ❑ Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται στην ιατρική και την κτηνιατρική, στη γεωργία την κτηνοτροφία και τις υδατοκαλλιέργειες
 - Τα αντιβιοτικά της ομάδας των β-λακταμών συμπεριλαμβανομένων των πενικιλινών και των κεφαλοσπορινών είναι οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες ουσίες στην ιατρική παγκοσμίως
- ❑ Όσον αφορά στα ζώα τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται επίσης για την ανατροφή και την ενίσχυση της αύξησης τους εκτός από τις κτηνιατρικές πρακτικές
- ❑ Αντιβιοτικά όπως η στρεπτομυκίνη και η οξυτετρακυκλίνη χρησιμοποιούνται εκτεταμένα για την πρόληψη προσβολών σε καλλιέργειες λαχανικών και οπωροφόρων
- ❑ Η οξυτετρακυκλίνη, τα σουλφοναμίδια και άλλα αντιβιοτικά όπως τα σουλφοναμίδια, η ερυθρομυκίνη, και η φλορφενικόλη, χρησιμοποιούνται στα ιχθυοτροφεία για την καλλιέργεια ψαριών και μαλάκιων

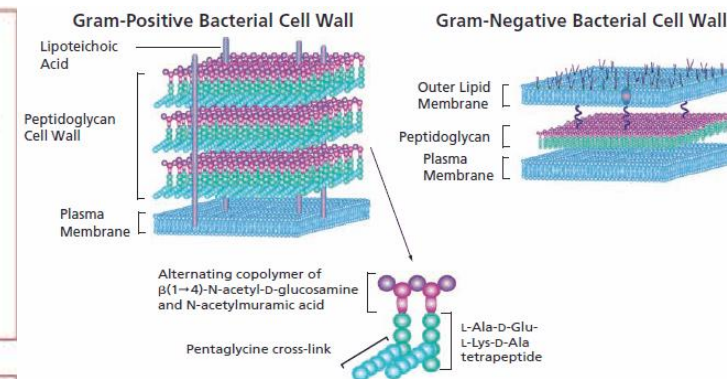
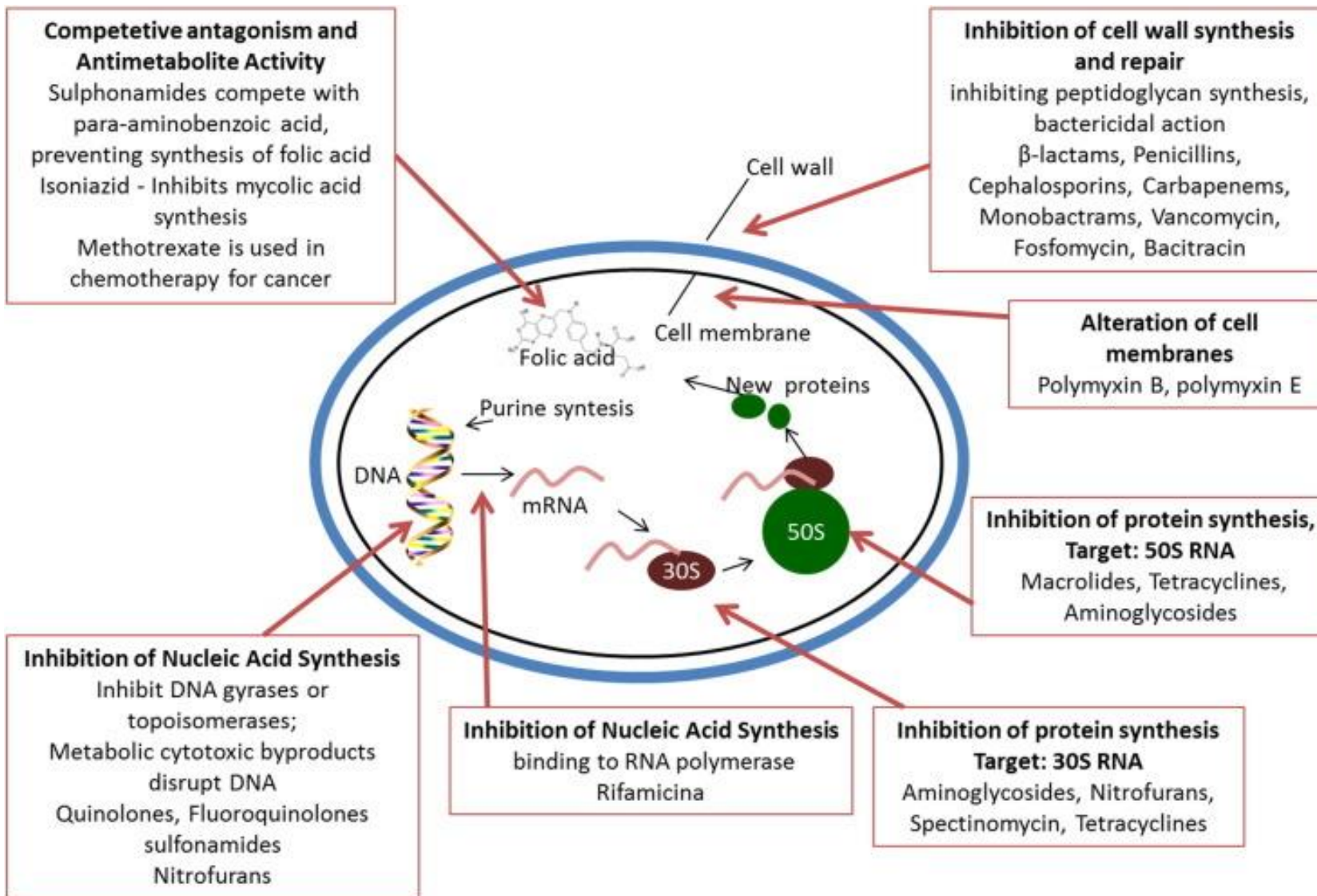


Αντιβιοτικά και μηχανισμοί δράσης

- Αναστολή σύνθεσης νουκλεϊκών οξέων
- Αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης
- Αναστολή της σύνθεσης κυτταρικού τοιχώματος
- Διαταραχή της κυτταροπλασματικής μεμβράνης
- Παρεμβολή σε μονοπάτια βιοσύνθεσης και αναστολή μεταβολισμού



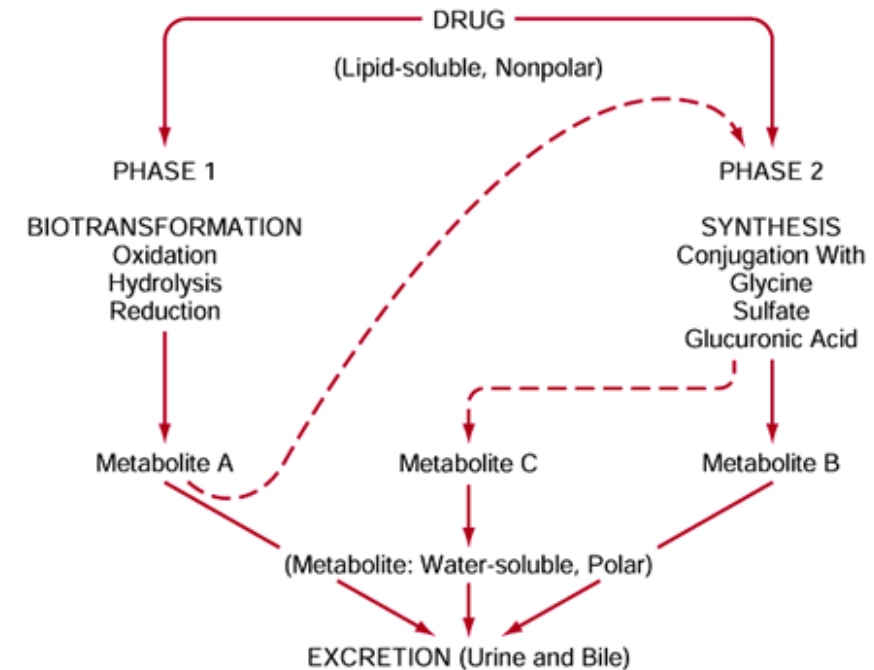
Αντιβιοτικά και μηχανισμοί δράσης



Μεταβολισμός των αντιβιοτικών

❑ Μεταβολισμός αντιβιοτικών και λοιπών φαρμακευτικών ουσιών μετά την πρόσληψη

- ❑ Τα φάρμακα μετά την κατανάλωση τους απορροφούνται από τον οργανισμό και υφίστανται μεταβολικές αντιδράσεις
- ❑ Διακρίνονται δύο φάσεις μεταβολισμού:
 - **Φάση I**: πραγματοποιούνται αντιδράσεις οξείδωσης, αναγωγής ή υδρόλυσης και προστίθενται στα μόρια ενεργές ομάδες που ορισμένες φορές οδηγούν στην παραγωγή ενώσεων μεγαλύτερης τοξικότητας από τις μητρικές
 - **Φάση II**: πραγματοποιούνται αντιδράσεις που περιλαμβάνουν ομοιοπολικές συζεύξεις, σχηματίζοντας υδρόφιλα προϊόντα (π.χ. προσθήκη κάρβοξυ-, αλόγονο-, νίτρο- ή άμινο- ομάδων καθώς και σχηματισμό πεπτιδίων), τα οποία είναι συνήθως ανενεργά



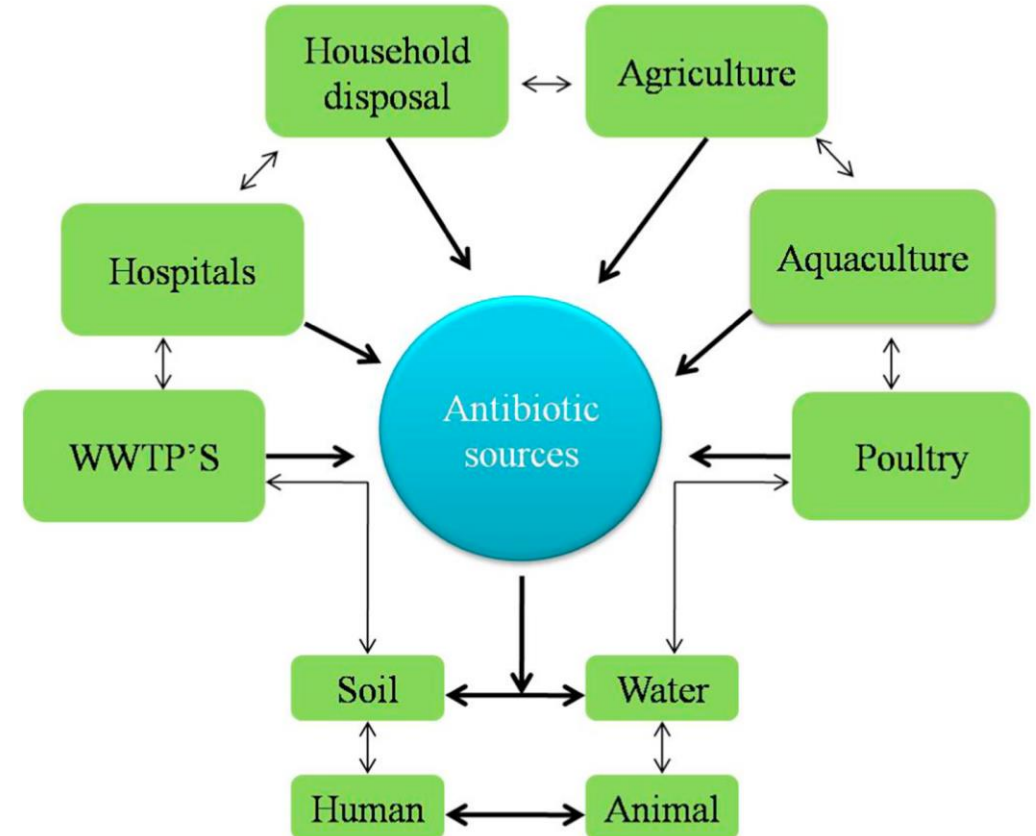
Μεταβολισμός των αντιβιοτικών

- ❑ **Μεταβολισμός αντιβιοτικών και λοιπών φαρμακευτικών ουσιών μετά την πρόσληψη**
- ❑ Και στις δύο φάσεις μεταβολισμού αλλάζει η φυσικοχημική συμπεριφορά των ενώσεων και δημιουργούνται μεταβολίτες που είναι πιο πολικοί και κατά συνέπεια πιο διαλυτοί στο νερό και εκκρίνονται ευκολότερα απ' ότι οι αρχικές ουσίες
- ❑ Κάποιοι μεταβολίτες είναι δυνατόν να μετατραπούν και πάλι στις μητρικές ενώσεις κατά την απελευθέρωσή τους στο περιβάλλον
- ❑ Στο περιβάλλον μπορούν να καταλήξουν (μέσω των απεκκρίσεων) όχι μόνο οι μητρικές δραστικές ουσίες αλλά και οι μεταβολίτες τους, προκαλώντας πιθανώς επιπρόσθετα προβλήματα => μετατροπή σε ουσίες περισσότερο υδατοδιαλυτές ή/και τοξικές

Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

□ Πηγές εκροής αντιβιοτικών και λοιπών φαρμακευτικών ουσιών

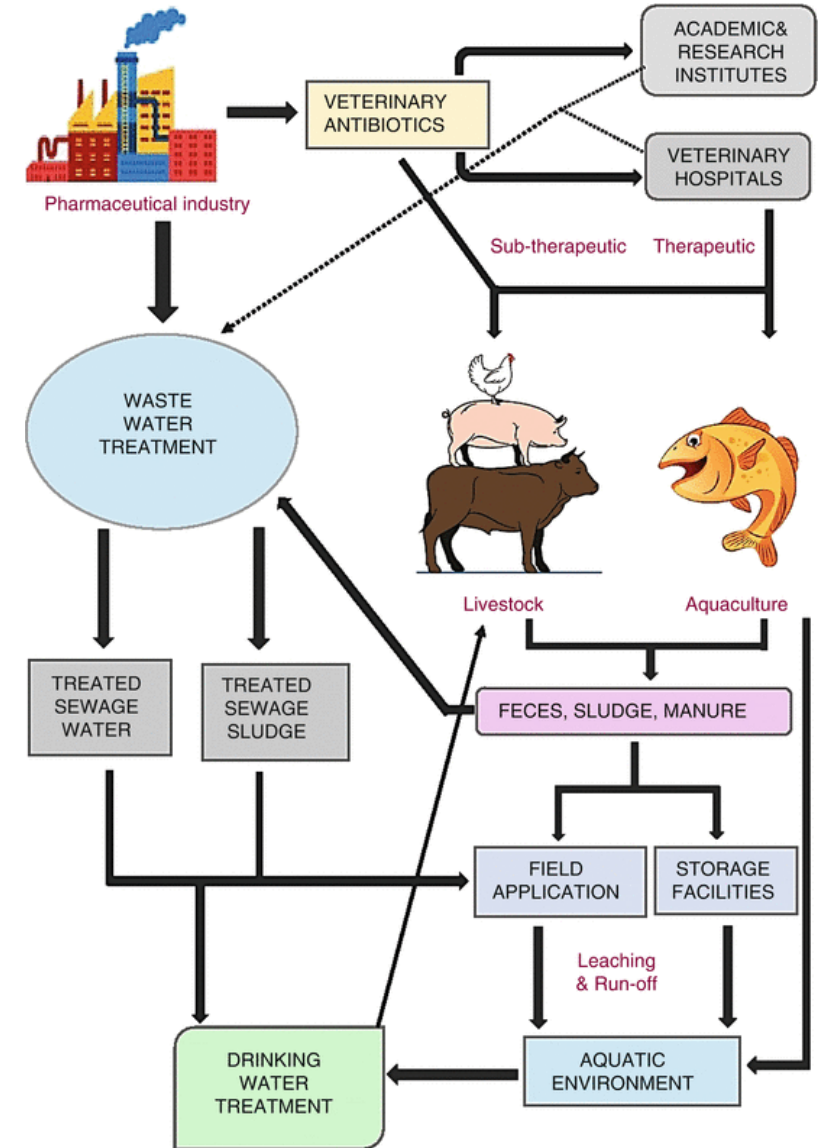
- Καταλήγουν στο έδαφος, στα επιφανειακά ύδατα και περιστασιακά σε υπόγεια και πόσιμα ύδατα (ως μητρικές ουσίες ή ως ενεργοί μεταβολίτες) μέσω:
 - Χρήσης τους στην ιατρική, τη γεωργία, την κτηνοτροφία, υδατοκαλλιέργειες
 - Παραγωγής αστικών και νοσοκομειακών αποβλήτων
 - Μικρής σημασίας εκροές από εγκαταστάσεις παραγωγής



Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

❑ Αντιβιοτικά στην κτηνοτροφία

- ❑ Χρήση για τη θεραπεία άρρωστων ζώων, για προληπτικούς λόγους και ως ενισχυτικά αύξησης
- ❑ Στο σώμα των ζώων μεταβολίζονται μερικώς ή καθόλου=> η αρχική ένωση ή οι μεταβολίτες της διασπείρονται στο περιβάλλον με τις ζωικές απεκκρίσεις
- => ρύπανση του εδάφους και των ιζημάτων περιμετρικά των εγκαταστάσεων
- => ρύπανση των υδάτινων οικοσυστημάτων
 - Υπόγειων υδάτων μέσω αποστράγγισης της κοπριάς
 - Επιφανειακών υδάτων μέσω επιφανειακής απορροής, έκπλυσης χημικών από το δέρμα των ζώων κ.α.



Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

❑ Αντιβιοτικά στη γεωργία

- ❑ Στα γεωργικά οικοσυστήματα τα αντιβιοτικά εισέρχονται κυρίως με:
 - Τη χρήση εδαφοβελτιωτικών βιοστερεών όπως κοπριά, επεξεργασμένη ιλύς και άλλα ιζήματα
 - Την άρδευση εδώδιμων καλλιεργειών (λαχανικά και φρούτα) με επεξεργασμένα υγρά απόβλητα, επιφανειακά νερά (λίμνες, ποτάμια, υδροβιότοπους) ή υπόγεια νερά (γεωτρήσεις)
 - Αλλά και για τον έλεγχο των κυριότερων βακτηριακών ασθενειών σε φρούτα, λαχανικά και καλλωπιστικά φυτά (π.χ. στρεπτομυκίνη και σε μικρότερο βαθμό οξυτετρακυκλίνη σε καλλιέργειες μήλων και αχλαδιών για τον έλεγχο προσβολών από *Erwinia amylovora* = βακτηριακό κάψιμο)



Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

❑ Αντιβιοτικά στις μονάδες υδατοκαλλιέργειας

- ❑ Χρήση για θεραπευτικούς και προληπτικούς σκοπούς, αλλά και ως ενισχυτικά της αύξησης
- ❑ Η συσσώρευση αντιβιοτικών μπορεί να γίνει μέσω της εναπόθεσης από απεκκρίσεις, τροφή, που δεν καταναλώθηκε και άλλου τύπου ιζήματα
- ❑ Δυνατότητα εισροής τους στα υδάτινα οικοσυστήματα
- ❑ Μετά την επεξεργασία των αποβλήτων από τέτοιες εγκαταστάσεις οι εκροές είτε απορρίπτονται σε παρακείμενα ύδατα είτε προωθούνται για περαιτέρω επεξεργασία σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας υγρών αποβλήτων και χώρους υγειονομικής ταφής και ανακύκλωσης



Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

❑ Αντιβιοτικά στις μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων

- ❑ Τα αντιβιοτικά καταλήγουν στις μονάδες επεξεργασίας υγρών αποβλήτων μέσω:
 - Του αποχετευτικού δικτύου όπου συγκεντρώνονται οικιακά, κτηνοτροφικά, γεωργικά, νοσοκομειακά και βιομηχανικά απόβλητα με μικρή ή καθόλου προεπεξεργασία
 - Η πλειοψηφία των μονάδων αυτών δε διαθέτει συστήματα ελέγχου και μέτρησης της συγκέντρωσης ενώσεων όπως τα αντιβιοτικά και άλλοι ρύποι, που έχουν χαρακτηριστεί ως αναδυόμενου ενδιαφέροντος (προϊόντα προσωπικής φροντίδας, ναρκωτικές ουσίες, κ.α.) και καταλήγουν στα υγρά απόβλητα
 - Εκροές από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αστικών αποβλήτων
 - Η ύπαρξη αντιβιοτικών στα απόβλητα μπορεί να ευνοήσει την επιλογή – ή τη συνεπιλογή – συγκεκριμένων βακτηρίων που φέρουν ανθεκτικότητα σε έστω έναν από αυτούς τους παράγοντες έναντι άλλων

Αντιβιοτικά και διασπορά στο περιβάλλον

❑ **Αντιβιοτικά στα απόβλητα των μονάδων παραγωγής αντιβιοτικών**

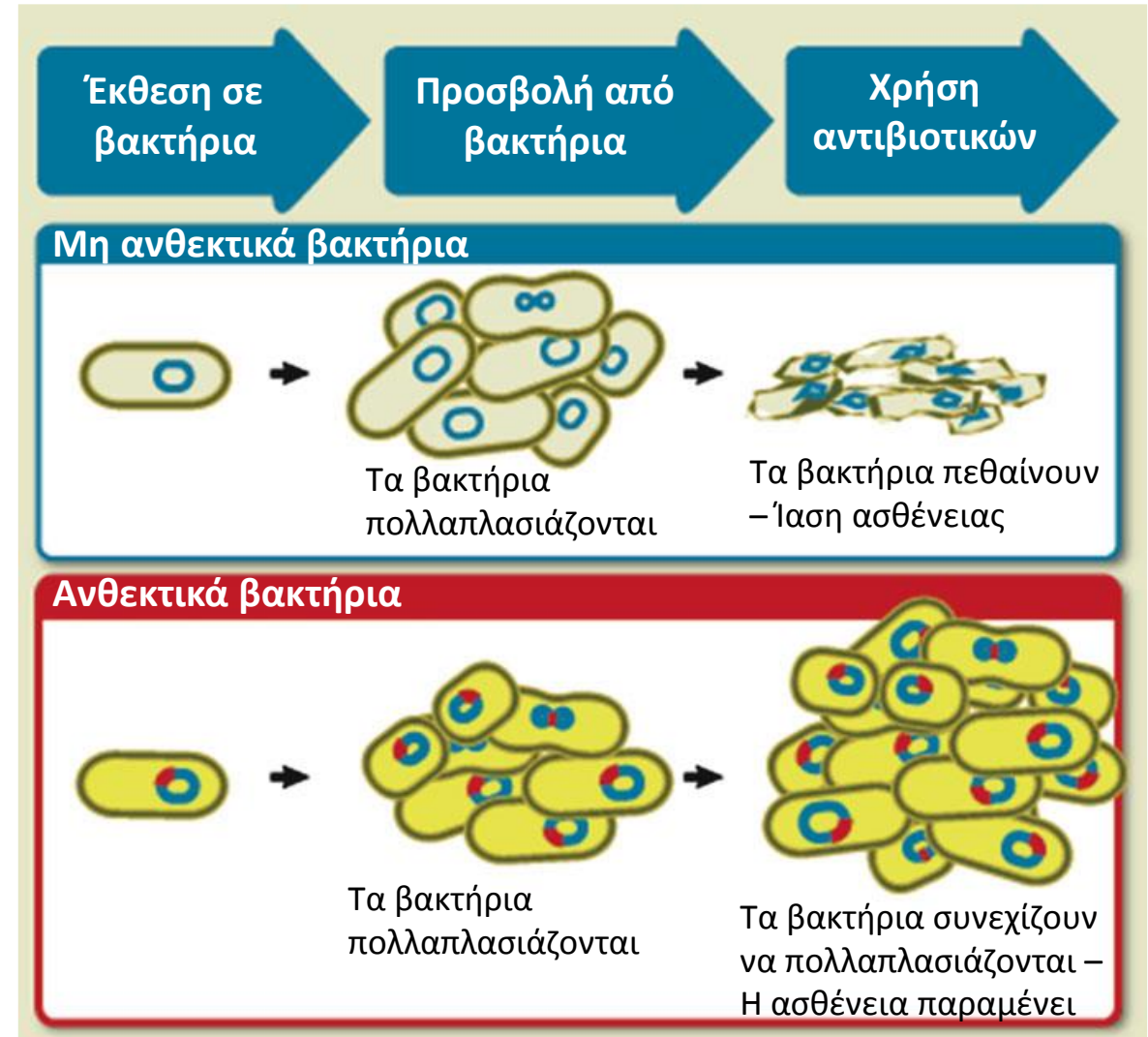
- ❑ Κάποιες μονάδες παραγωγής αντιβιοτικών διαθέτουν εγκαταστάσεις επεξεργασίας των αποβλήτων τους
- ❑ Σε ορισμένες περιπτώσεις τα απόβλητα καταλήγουν σε εγκαταστάσεις όπου επεξεργάζονται παράλληλα με άλλα αστικά και βιομηχανικά απόβλητα

❑ **Αντιβιοτικά στα απόβλητα νοσοκομείων**

- ❑ Κάποιες νοσοκομειακές μονάδες διαθέτουν τα δικά τους συστήματα επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, ωστόσο οι περισσότερες τα διοχετεύουν στις μονάδες επεξεργασίας αστικών και βιομηχανικών αποβλήτων

Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

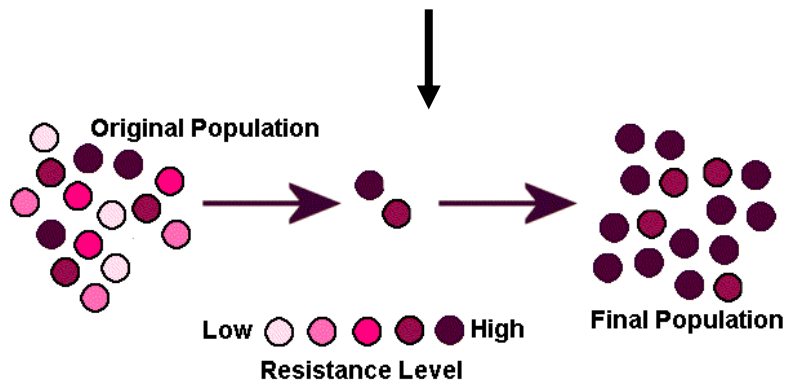
- ❑ Πρόκειται για την ικανότητα μικροοργανισμών, όπως τα βακτήρια, να γίνονται όλο και πιο ανθεκτικά σε ένα αντιβιοτικό στο οποίο ήταν αρχικώς ευαίσθητα => λιγότερο αποτελεσματικά και τελικώς αναποτελεσματικά
- ❑ Συμβολή ανθρωπογενών παραγόντων όπως η μη ενδεδειγμένη χρήση των αντιβιοτικών στην ιατρική και στην κτηνιατρική, οι κακές συνθήκες και πρακτικές υγιεινής στα περιβάλλοντα παροχής υπηρεσιών υγείας ή στην τροφική αλυσίδα που διευκολύνουν τη μετάδοση των ανθεκτικών μικροοργανισμών



Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

Φυσική (intrinsic/innate)

Οι μικροοργανισμοί διαθέτουν εκ φύσεως/ εκ γενετής γονίδια που τους προσδίδουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά- Προϋπάρχει στη φύση



Επίκτητη (acquired)

Το γενετικό υλικό των βακτηρίων μεταβάλλεται με τέτοιο τρόπο που τους προσδίδει ανθεκτικότητα - Συχνά μπορεί να προέρχεται από την πίεση των αλληλεπιδράσεων με άλλους μικροοργανισμούς ή να οφείλεται σε ανθρωπογενή αίτια

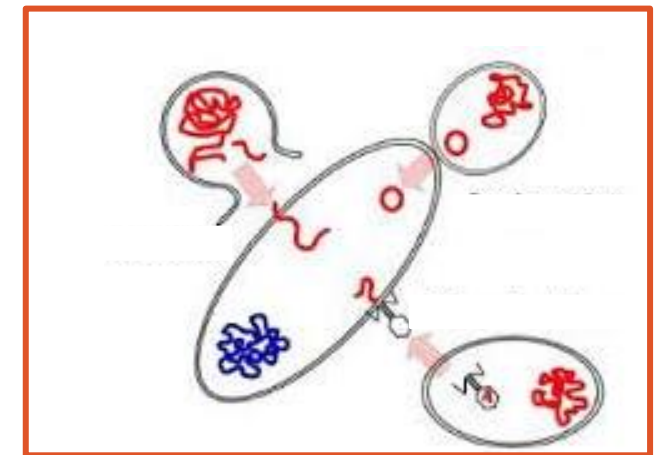
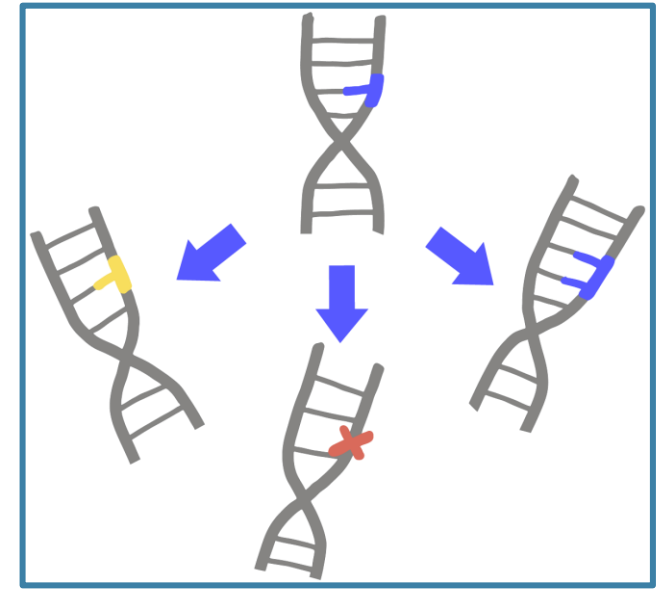


π.χ. βακτήρια που στερούνται κυτταρικού τοιχώματος παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά που αναστέλλουν τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος

Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

□ Επίκτητη ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

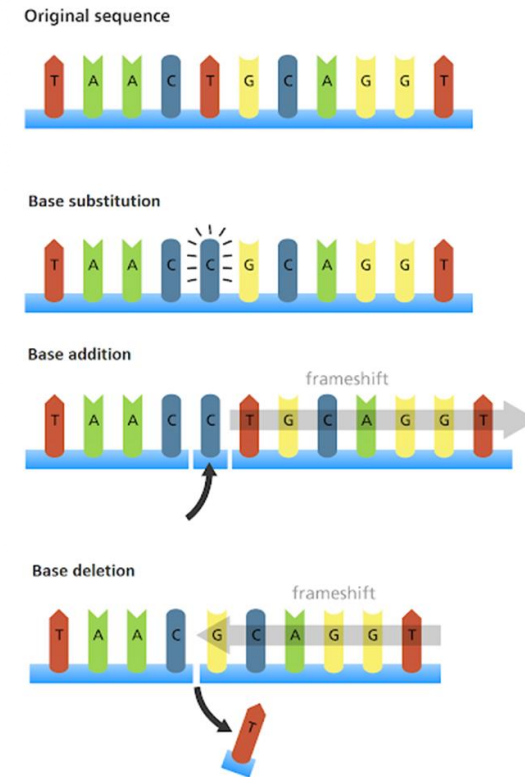
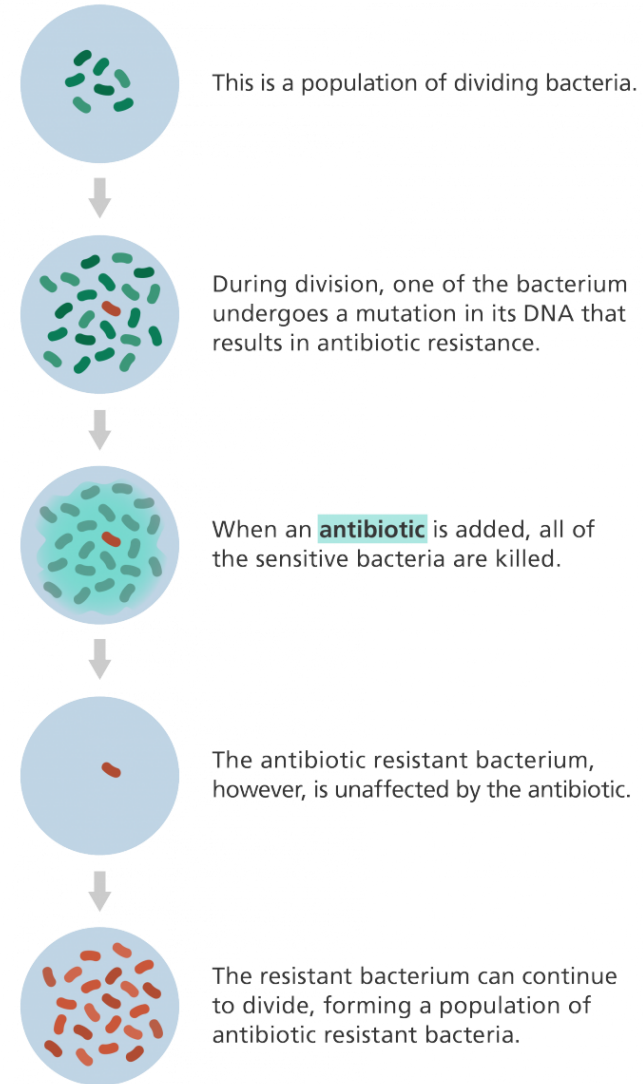
- Η επίκτητη ανθεκτικότητα των βακτηρίων στα αντιβιοτικά είναι αποτέλεσμα βιοχημικών διαδικασιών, οι οποίες οφείλονται σε:
 - Τυχαίες χρωμοσωμικές μεταλλάξεις σε κάποιο (ή κάποια) γονίδια που μεταβάλλουν ή περιορίζουν την έκφραση μιας πρωτεΐνης
 - Απόκτηση εξωγενούς γενετικού υλικού DNA από άλλα βακτήρια



Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

❑ Χρωσωμικές μεταλλάξεις

- ❑ Οι μεταλλάξεις αφορούν στο χρωσωμικό DNA
- ❑ Συνήθως συμβαίνουν σπάνια (10^{-7} - 10^{-8}) και τυχαία
- ❑ Πραγματοποιούνται υπό την πίεση της επιλογής από την έκθεση στα αντιβιοτικά και σε άλλους παράγοντες και οδηγούν στην ανάπτυξη ανθεκτικών μικροβιακών πληθυσμών – **κάθετη μεταβίβαση**



Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

- ❑ **Αυξημένος ρυθμός μεταλλάξεων λόγω της πίεσης επιλογής από την παρουσία των αντιβιοτικών**
- ❑ Αυξημένος ρυθμός μεταλλάξεων σχετίζεται συνήθως με αλλαγές στα γονίδια που σχετίζονται με το σύστημα επιδιόρθωσης μη συζευγμένων νουκλεοτιδίων
- ❑ Οι μεταλλάξεις στο σύστημα επιδιόρθωσης μη συζευγμένων νουκλεοτιδίων αυξάνουν την πιθανότητα γενετικού ανασυνδιασμού, παρέχοντας ποικιλότητα ως προς τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας
- ❑ Μετάλλαξεις στα ένζυμα γυράσης - τοποϊσομεράσης (ανθεκτικότητα της *Salmonella*)
- ❑ Αύξηση του ρυθμού των μεταλλάξεων λόγω οξειδωτικού στρες

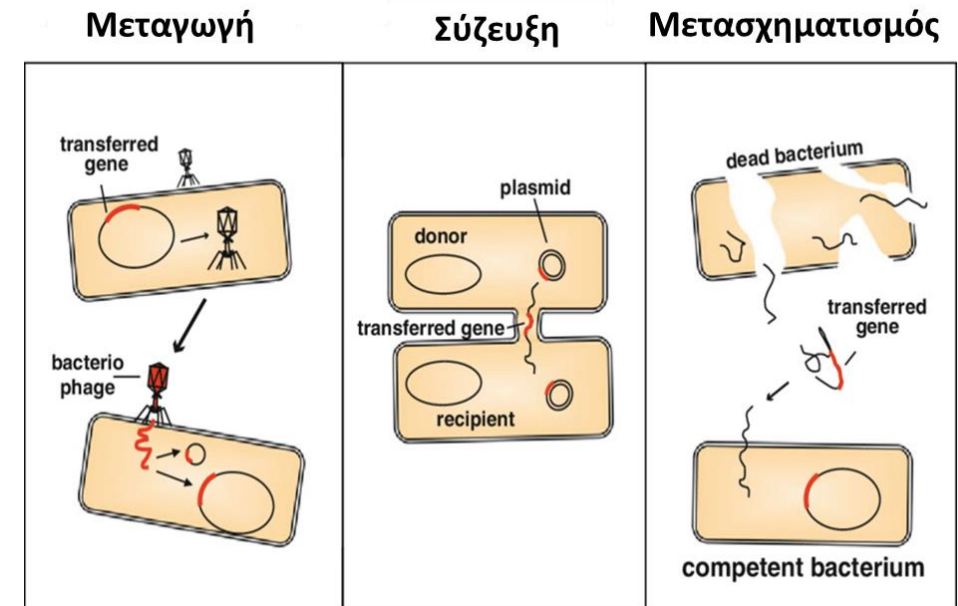
Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

□ Απόκτηση εξωγενούς γενετικού υλικού – Μεταβίβαση γονιδίων ανθεκτικότητας

□ Τα γονίδια της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά συχνά βρίσκονται σε εξωχρωμοσωμικά γενετικά στοιχεία ή σε τμήματα ενσωματωμένα στο χρωμόσωμα

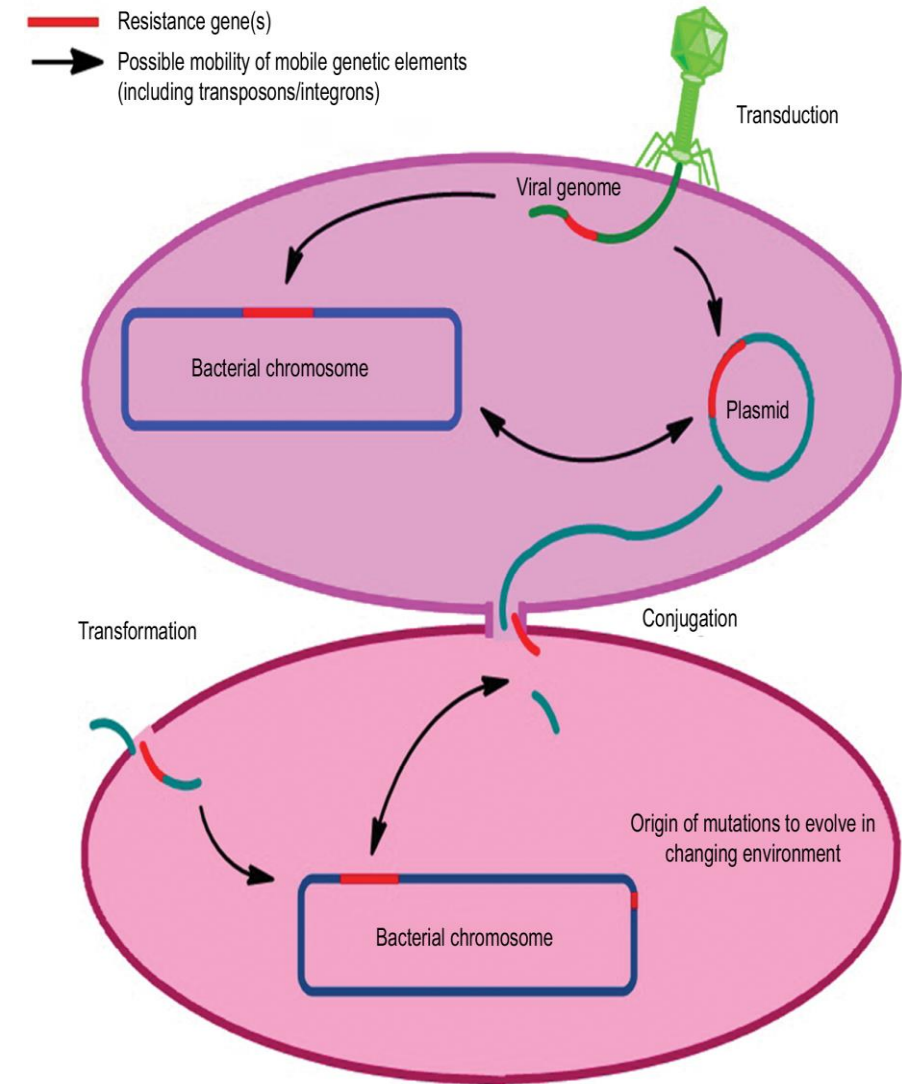
□ Η μεταβίβαση νέων γονιδίων στο βακτήριο πραγματοποιείται με:

- Μετασχηματισμό (transformation)
- Σύζευξη (conjugation)
- Μεταγωγή (transduction)



Αντιβιοτικά και οριζόντια μεταδοση

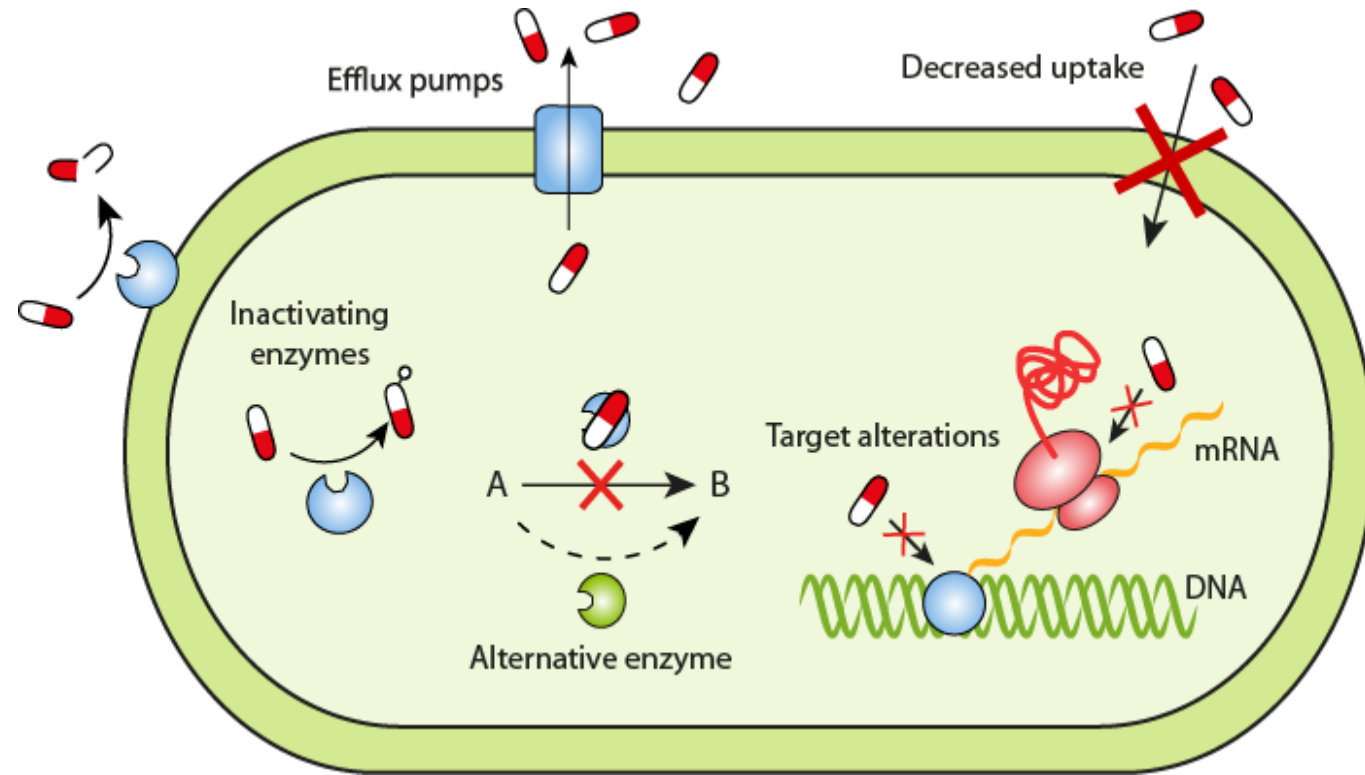
- ❑ **Μεταθετό Στοιχείο:** Τμήμα μορίου DNA (χρωμοσώματος ή πλασμιδίου) που έχει την ικανότητα να μετακινείται από μόριο σε μόριο
- **Πλασμίδιο:** Κυκλικό τμήμα DNA, μέσα στο μικροβιακό κύτταρο. Υπάρχει αυτόνομα από το χρωμόσωμα του μικροοργανισμού και έχει τη δυνατότητα να αναπαράγεται αυτόνομα και να μεταφέρεται από κύτταρο σε κύτταρο
- **Μεταθετόνιο ή τρανσποζόνιο:** Τμήμα μορίου DNA χωρίς ικανότητα αντιγραφής, που μπορεί και μετακινείται σε άλλες θέσεις στο χρωμοσωμικό DNA ή σε πλασμίδια
- **Ιντεγκρόνιο:** Τμήμα μεταθετού στοιχείου στο οποίο μπορούν και ενσωματώνονται γονίδια
- **Βακτηριοφάγος:** Ιός που μολύνει βακτηριακό κύτταρα



Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

❑ Βιοχημικοί μηχανισμοί

- ❑ Τροποποίηση του στόχου δράσης του αντιβιοτικού
- ❑ Αδρανοποίηση των αντιβιοτικών μέσω ενζύμων
- ❑ Μειωμένη συγκέντρωση του αντιβιοτικού
 - Μειωμένη είσοδος του αντιβιοτικού
 - Ενεργητική αποβολή του αντιβιοτικού



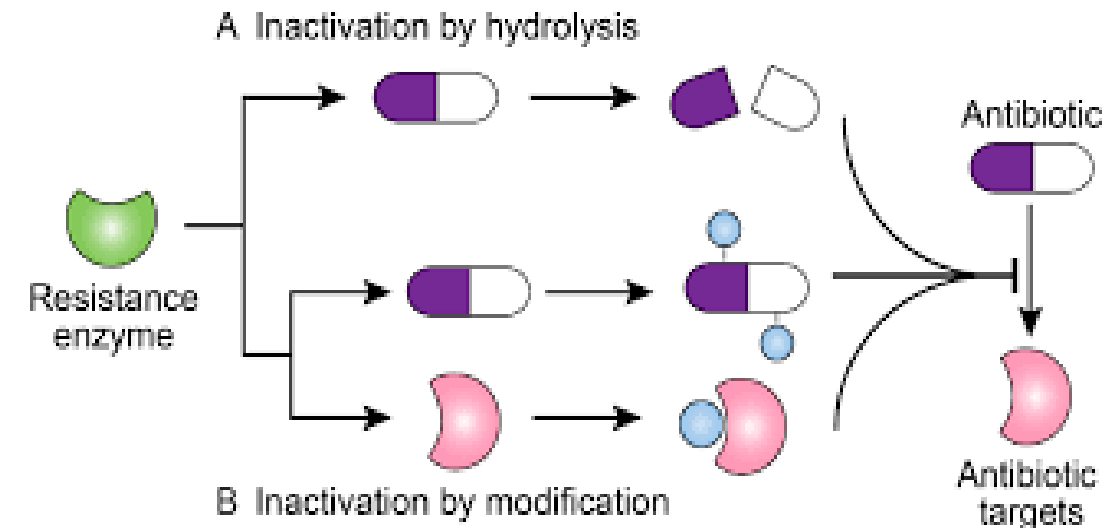
Μπορεί να συνυπάρχουν

Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

❑ Βιοχημικοί μηχανισμοί - Παραδείγματα

❑ Αδρανοποίηση των αντιβιοτικών μέσω ενζύμων

- **β-λακταμάσες:** αδρανοποιούν τις β-λακτάμες διασπώντας τον αμιδικό δεσμό του β-λακταμικού δακτυλίου
- Τα Gram αρνητικά βακτήρια παράγουν ευρύτερο φάσμα β-λακταμασών σε σύγκριση με τους Gram θετικούς μικροοργανισμούς
- **Εστεράσες:** η ερυθρομυκίνη αδρανοποιείται από μια εστεράση που υδρολύει το δακτύλιο λακτόνης του αντιβιοτικού
- **Ακετυλοτρανσφεράσες:** Η χλωραμφαινικόλη αδρανοποιείται μέσω μιας ακετυλοτρανσφεράσης της χλωραμφαινικόλης, η οποία έχει απομονωθεί τόσο από Gram θετικά, όσο και από Gram αρνητικά βακτήρια
- Τα αμινογλυκοσίδια μπορούν να αδρανοποιηθούν από ακετυλοτρανσφεράσες



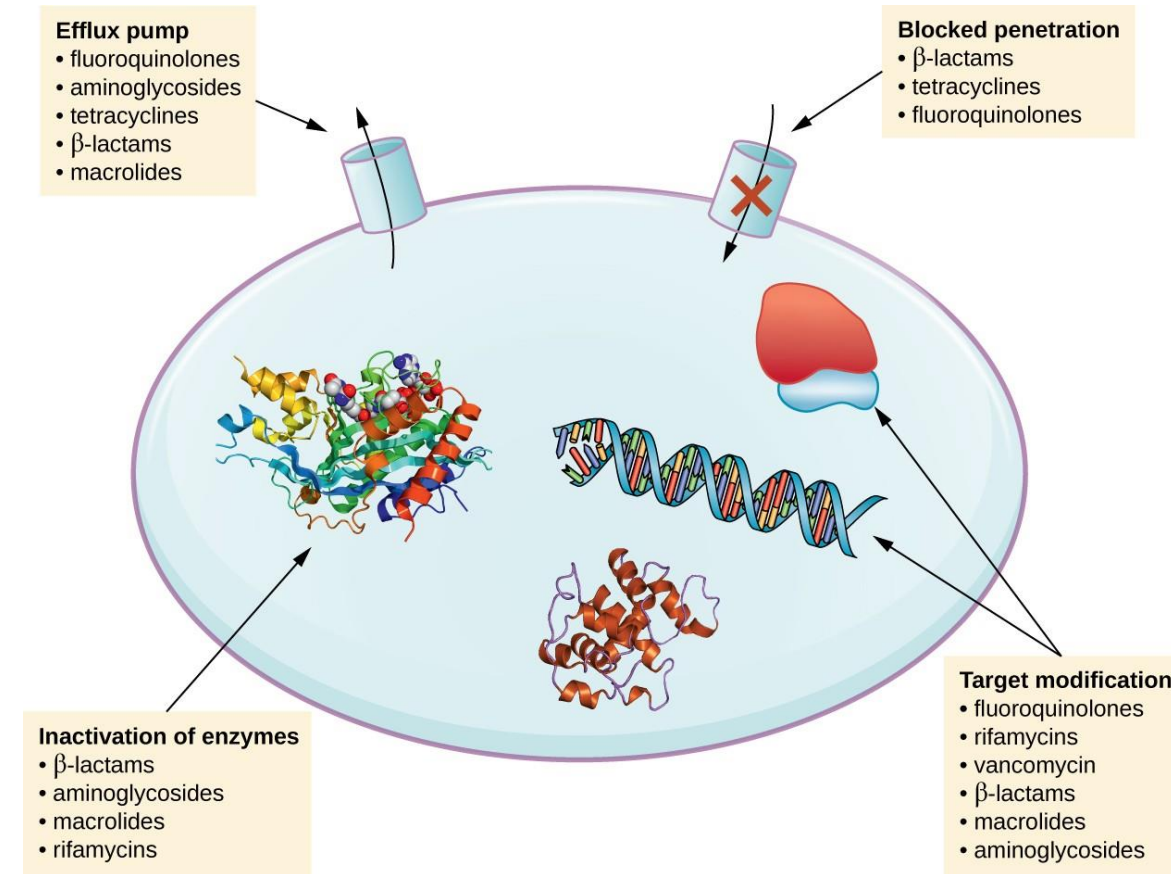
Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

❑ Βιοχημικοί μηχανισμοί - Παραδείγματα

❑ Μειωμένη συγκέντρωση του αντιβιοτικού

I. Μειωμένη είσοδος του αντιβιοτικού

- Η είσοδος υδρόφιλων αντιβιοτικών διευκολύνεται από την παρουσία των πορινών (=πρωτεΐνες) – μικρών καναλιών των κυτταρικών τοιχωμάτων των Gram αρνητικών βακτηρίων
- Μεταλλάξεις που οδηγούν στην απώλεια αυτών των πορινών μπορούν να μειώσουν τη διείσδυση του αντιβιοτικού και να οδηγήσουν στην ανάπτυξη μικροβιακής ανθεκτικότητας

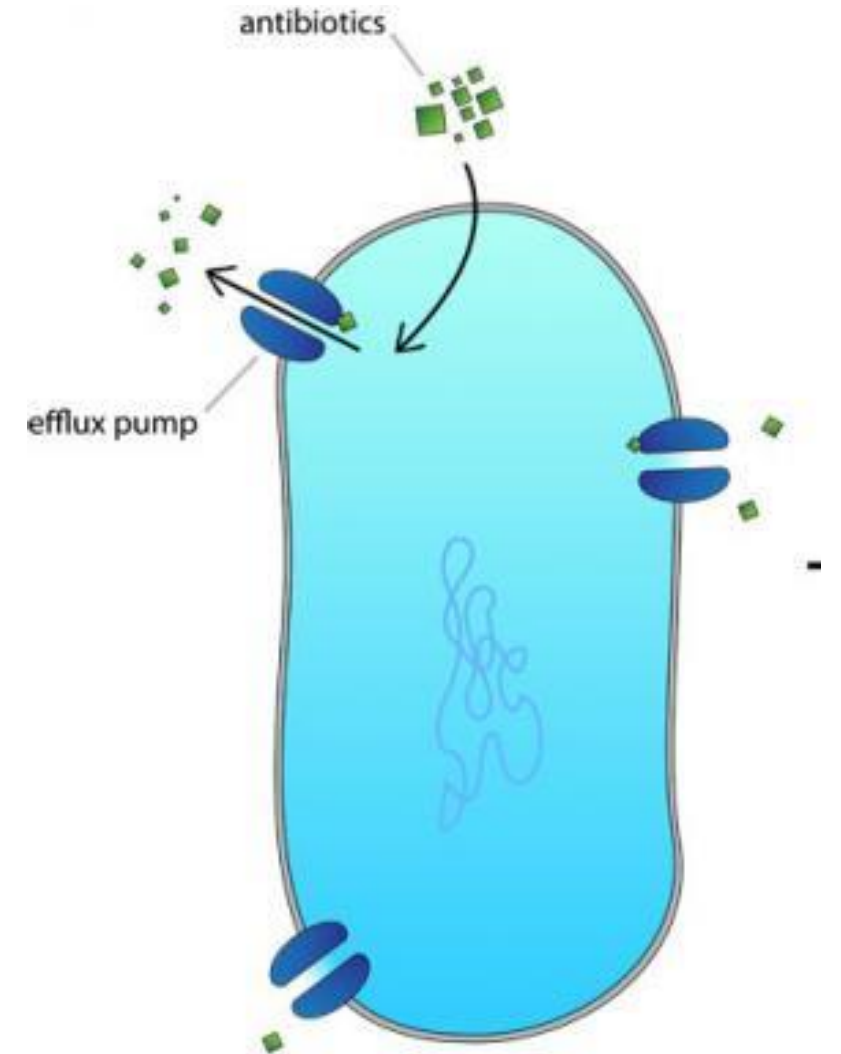


Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

❑ Βιοχημικοί μηχανισμοί - Παραδείγματα

II. Ενεργητική αποβολή του αντιβιοτικού

- **Αντλίες εκροής (efflux pumps)**
- Πρωτεΐνες μεταφοράς που εμπλέκονται στην απομάκρυνση τοξικών ουσιών από το εσωτερικό του κυττάρου στο εξωτερικό περιβάλλον
- Απαντώνται σε αρνητικά και θετικά κατά Gram βακτήρια και σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Ο μηχανισμός αυτός ανθεκτικότητας έχει παρατηρηθεί στις τετρακυκλίνες, μακρολίδες και φθοριοκινολόνες κ.α.

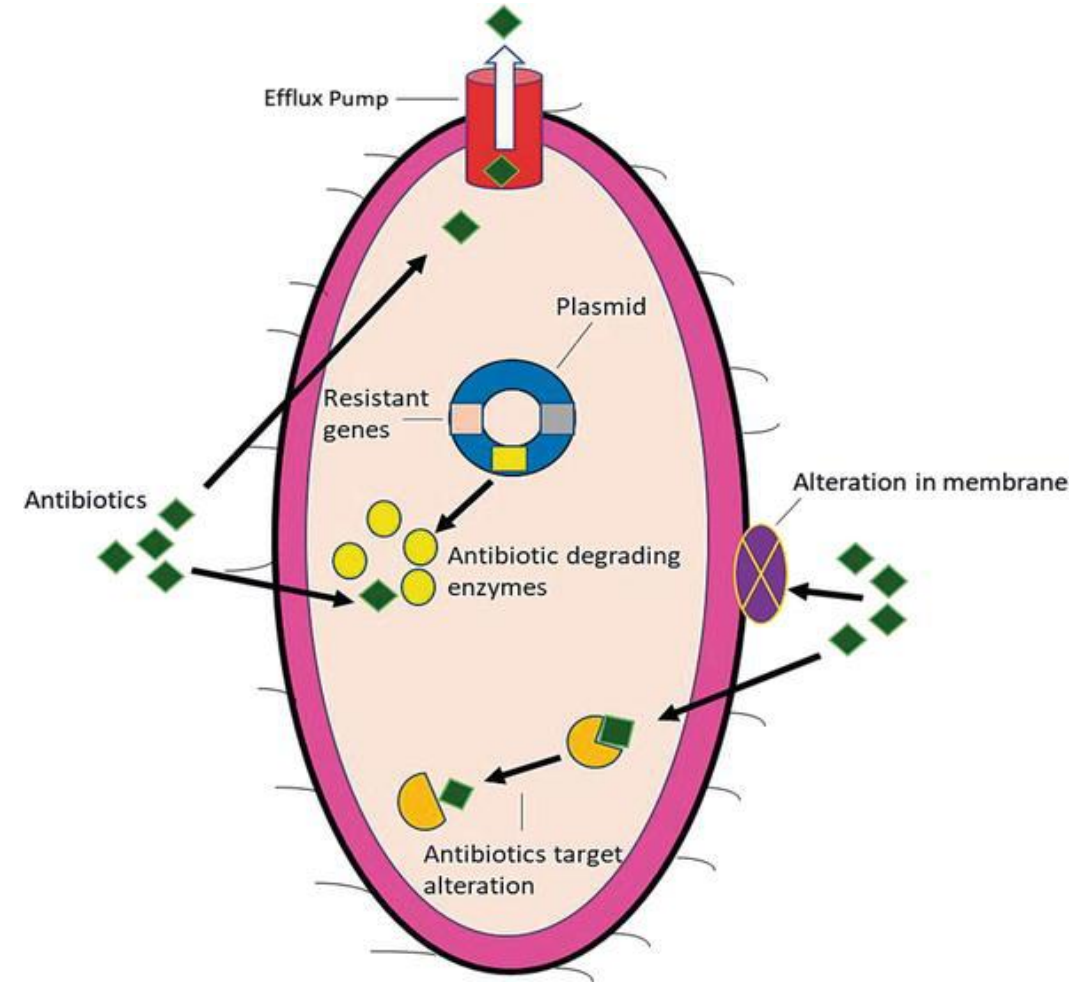


Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

□ Βιοχημικοί μηχανισμοί - Παραδείγματα

II. Ενεργητική αποβολή του αντιβιοτικού

- **Αντλίες εκροής (efflux pumps)**
- Οι αντλίες μπορεί να παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς την απομάκρυνση μιας ουσίας ή μπορεί να μεταφέρουν ένα εύρος δομικά ανόμοιων συστατικών (όπως αντιβιοτικά διαφορετικών κατηγοριών) => σύνδεση με πολλαπλή ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά
- Ενεργητική μεταφορά στο εξωτερικά του κυττάρου με χρήση κάποιας πηγής ενέργειας όπως η κινητική των πρωτονίων ή μέσω υδρόλυσης της ATP



Μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

❑ Βιοχημικοί μηχανισμοί - Παραδείγματα

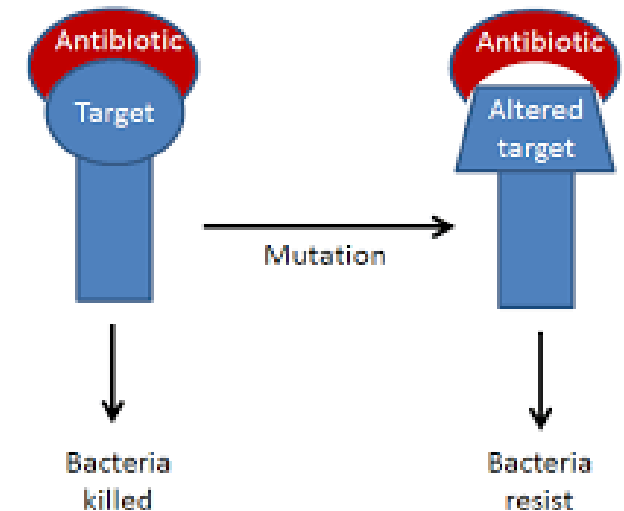
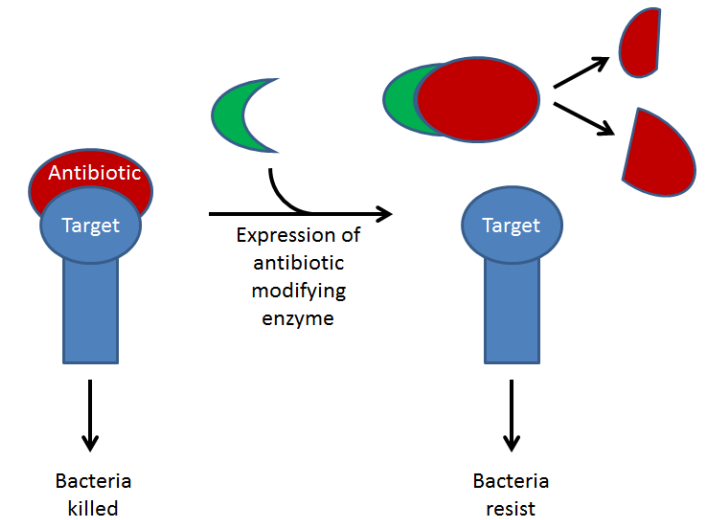
❑ Τροποποίηση του στόχου δράσης του αντιβιοτικού

❑ Αλλαγές στα ένζυμα στόχους

- Απόκτηση γονιδίων που κωδικοποιούν την παραγωγή ενός ενζυμού στόχου με χαμηλότερη συγγένεια ως προς το αντιβιοτικό συγκριτικά με το ένζυμο που παράγεται φυσιολογικά
- Παραγωγή αυξημένων ποσοτήτων ενζύμων στόχων

❑ Μεταβολές των πρόδρομων μορφών του κυτταρικού τοιχώματος (παράδειγμα αντοχής εντερόκκοκων σε βανακαμυκίνη)

❑ Διαφοροποιήσεις στην περιοχή δέσμευσης του ριβοσώματος => αναστολή δέσμευσης του αντιβιοτικού στο ριβόσωμα



Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

Φυσική (intrinsic/innate)

Οι μικροοργανισμοί διαθέτουν εκ φύσεως/ εκ γενετής γονίδια που τους προσδίδουν ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά- Προϋπάρχει στη φύση

Επίκτητη (acquired)

Το γενετικό υλικό των βακτηρίων μεταβάλλεται με τέτοιο τρόπο που τους προσδίδει ανθεκτικότητα- Συχνά μπορεί να προέρχεται από την πίεση των αλληλεπιδράσεων με άλλους μικροοργανισμούς ή να οφείλεται σε ανθρωπογενή αίτια

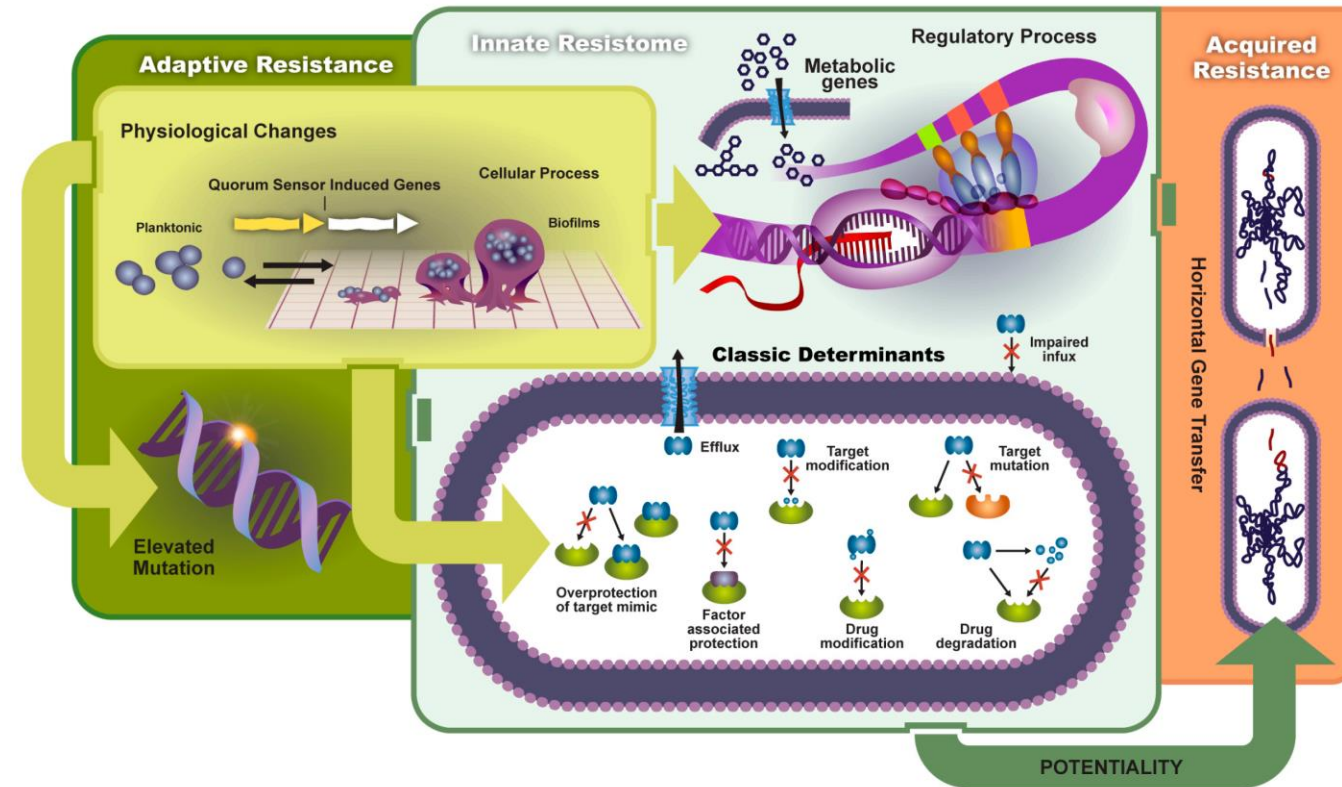
Ανθεκτικότητα προσαρμογής (adaptive)

Περιβαλλοντικά προκαλούμενες γενετικές αλλαγές όπως ο σχηματισμός βιοστρωμάτων, ενζυμική απενεργοποίηση των αντιβιοτικών, αλλαγές στη διαπερατότητα του κυτάρου και ρύθμιση των αντλιών εκροής

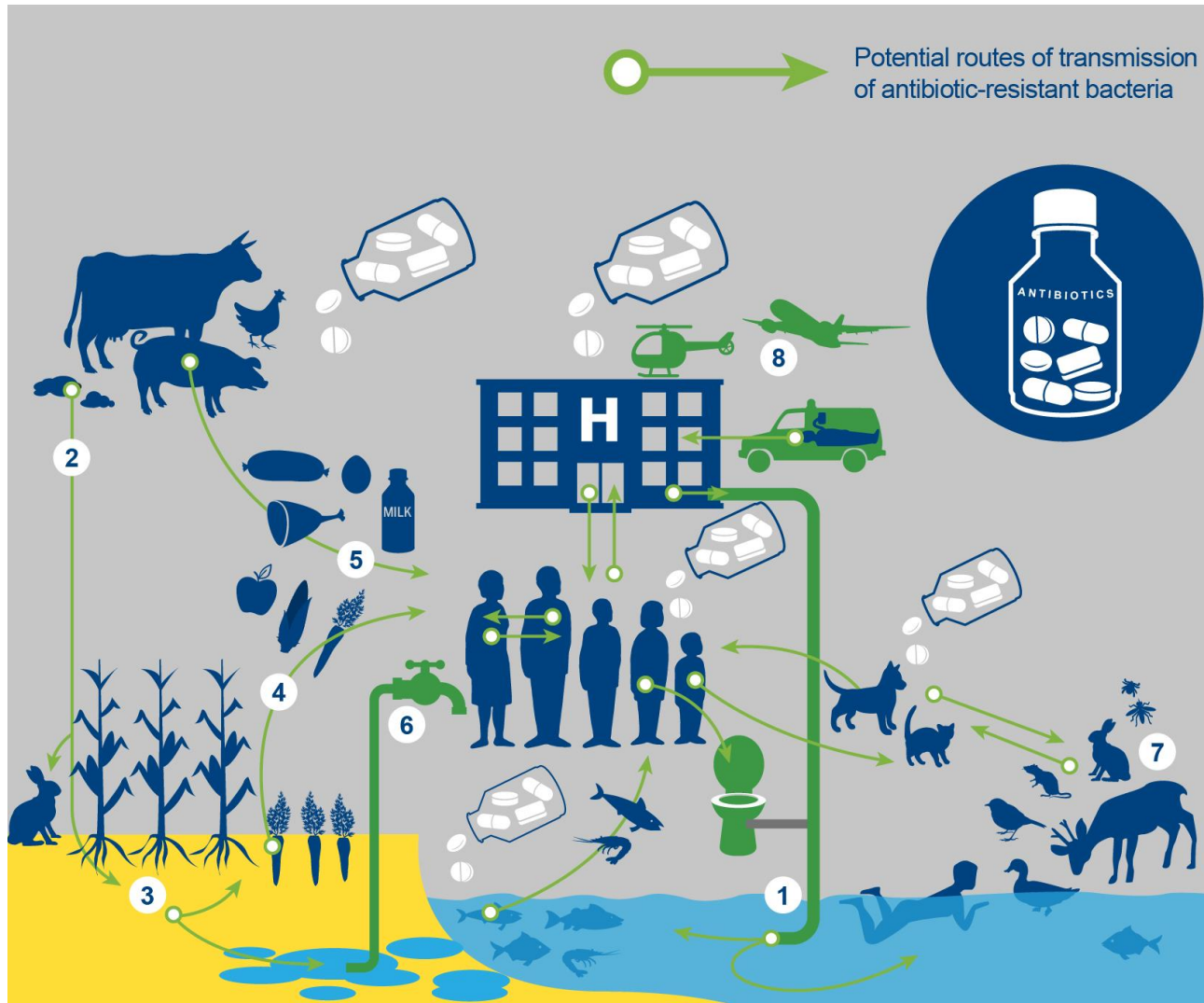
Μικροβιακή ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

❑ Σχηματισμός βιοστρωμάτων ως μηχανισμός ανθεκτικότητας

- ❑ Η υψηλή πυκνότητα κυττάρων και η διακυτταρική χημική επικοινωνία στις μικροβιακές κοινοπραξίες οδηγούν στο σχηματισμό βιοστρωμάτων
- ❑ Η δομή των βιοστρωμάτων λειτουργεί ως εμπόδιο στη διάχυση του αντιβιοτικού
- ❑ Οι μικροβιακοί υποπληθυσμοί επιδεικνύουν διαφορετική ευαισθησία στα αντιβιοτικά
- ❑ Αύξηση της πιθανότητας για οριζόντια γονιδιακή μεταφορά της συχνότητας των μεταλλάξεων



Διασπορά της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά



□ Οι άνθρωποι, τα ζώα (οικόσιτα και συντροφιάς) και τα ψάρια εκτροφής καταναλώνουν παρόμοιες κατηγορίες αντιβιοτικών για την αντιμετώπιση ή την πρόληψη ασθενειών => ανάπτυξη ανθεκτικών σε αντιβιοτικά μικροοργανισμών και στη συνέχεια διασπορά μέσω:

1. Των συστημάτων αποχέτευσης νερού
2. Της εφαρμογής ζωικής κοπριάς σε αγρούς με καλλιεργούμενα εδώδιμα φυτά
3. Της ανάπτυξης των ανθεκτικών μικροοργανισμών στα φυτά
4. Της τροφικής αλυσίδας με την κατανάλωση των εν λόγω φυτών
5. Ή των οικόσιτων ζώων και των ψαριών που φέρουν τα ανθεκτικά βακτήρια
6. Των υποδομών διανομής του νερού
7. Αγρίων ζώων ή εντόμων και άλλα ζώφιδων
8. Τουρισμού, μετανάστευσης, εισαγωγών τροφίμων, ιατρικής περίθαλψης

Διασπορά της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

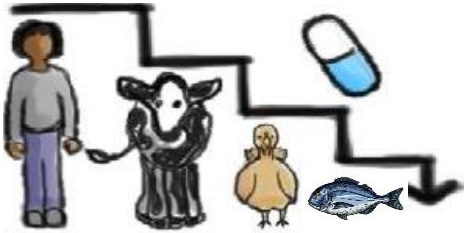
□ Γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ως περιβαλλοντικοί ρύποι

- Η διασπορά των γονιδίων ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά δεν σχετίζεται με την τοπική ή συνεχή διασπορά των ίδιων των αντιβιοτικών – σταθερότητα εμφάνισης ακόμα και απουσία των αντιβιοτικών
- Τα γονίδια αυτά εντοπίζονται και σε βακτήρια που προέρχονται από απομονωμένες περιοχές και χωρίς άμεση αλληλεπίδραση με παθογόνα
- Από τη στιγμή που τα γονίδια αυτά θα βρεθούν στο περιβάλλον, μπορούν να διασπαρούν ανάμεσα σε διαφορετικά είδη βακτηρίων και ενδαιτημάτων
- Η διασπορά των γονιδίων ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά μπορεί να αυξήσει την πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε είδη παθογόνα για τον άνθρωπο
- Στα φυσικά οικοσυστήματα, η παρουσία των ανθεκτικών γονιδίων μπορεί να επηρεάσει τη δυναμική και τη φυσιολογία των φυσικών μικροβιακών πληθυσμών

Π.χ. η ανθεκτικότητα στα γλυκοπεπτίδια ή στις β-λακτάμες τροποποιεί σημαντικά τη δομή της πεπτιδογλυκάνης στα θετικά κατά Gram βακτήρια, ενώ η ανθεκτικότητα μικρών αποικιών του *S. aureus* στα αντιβιοτικά μοιάζει να εξαρτάται στο μεταβολισμό τους από τα βακτήρια

Ανάσχεση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

- Δράσεις για τη μείωση της διασποράς της ανθεκτικότητας και των γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στο περιβάλλον



- Περιορισμός της χρήσης των αντιβιοτικών στην ιατρική, τη γεωργία, την κτηνοτροφία και τις υδατοκαλλιέργειες

- Μείωση των μολύνσεων και των μολυσματικών εξάρσεων με βελτίωση των συνθηκών υγιεινής και τον δομών υγείας, ορθολογιστική χρήση των αντιβιοτικών, απαγόρευση της χρήσης τους ως αυξητικών παραγόντων των ζώων



- Βελτίωση των διαγνωστικών εργαλείων

- Χρήση σύγχρονων μεθόδων για την ανίχνευση των ανθεκτικών βακτηρίων
- Ποσοτικά και ποιοτικά δεδομένα σχετικά με την αφθονία των γονιδίων ανθεκτικότητας στα διαφορετικά περιβάλλοντα και καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αντιβιοτικών και βακτηρίων = απαραίτητα για την αξιολόγηση και την αντιμετώπιση του κινδύνου

Ανάσχεση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

- ❑ Δράσεις για τη μείωση της διασποράς της ανθεκτικότητας και των γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στο περιβάλλον



- ❑ Εντοπισμός νέων στόχων

- Κάποια βιοχημικά μονοπάτια του κυτταρου είναι δυσκολότερο να προσπελαστούν από ή να τροποποιηθούν από τα βακτήρια κανοντάς τα ιδανικούς στόχους για νέα αντιβιοτικά

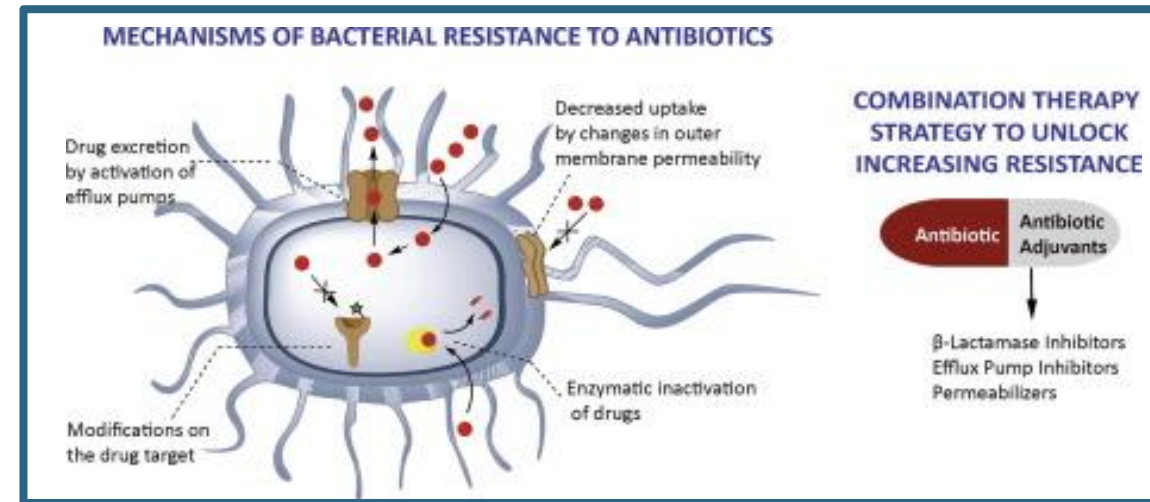


- ❑ Συνδιασμένη θεραπεία

- Συνδιασμένη χρήση των παραδοσιακών αντιβιοτικών με άλλα μόρια που παρεμποδίζουν την ανάπτυξη μηχανισμών ανθεκτικότητας => επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής των διαθέσιμων αντιβιοτικών και περιορίζει την πίεση για την ανάπτυξη νέων χημικών ουσιών με νέο στόχο δράσης

Ανάσχεση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

- ❑ Δράσεις για τη μείωση της διασποράς της ανθεκτικότητας και των γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά στο περιβάλλον
- ❑ Συνδιασμένη χρήση αντιβιοτικών και προσθετικών/βοηθητικών ουσιών
 - ❑ Για την παρεμπόδιση των μηχανισμών ανθεκτικότητας έχουν αναπτυχθεί τρεις τύποι βοηθητικών - προσθετικών ουσιών των αντιβιοτικών:
 - Παρεμποδιστές της β-λακταμάσης
 - Παρεμποδιστές των αντλιών εκροής
 - Ουσίες που επιδρούν στη διαπερατότητα των εξωτερικών μεμβρανών



ΕΙΔΙΚΑ ΜΑΘΗΜΑΤΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΑΛΕΞΗ 10B

ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΕΚΤΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΗ
ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ

ΔΙΔΑΣΚΟΥΣΑ: ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ

Αντιβιοτικά στο περιβάλλον

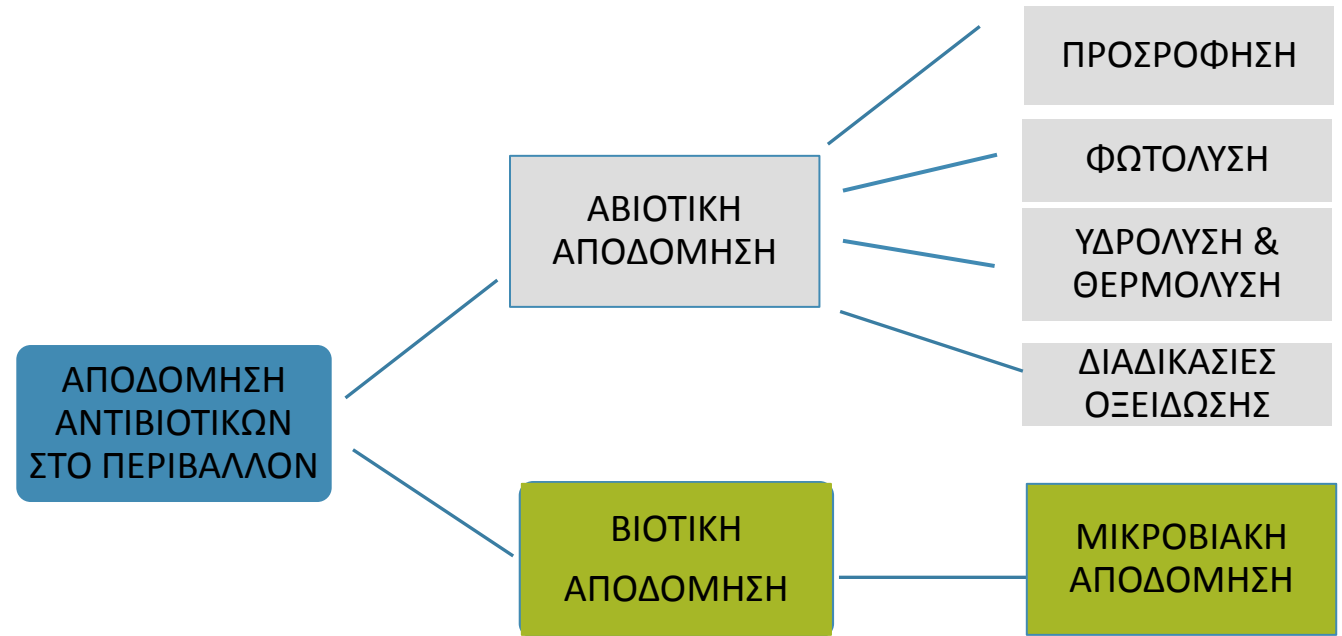
- ❑ Τα αντιβιοτικά στα φυσικά, χερσαία και υδάτινα, περιβάλλοντα ανιχνεύονται σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από ng έως μg ανά λίτρο νερού ή κιλό εδάφους
- ❑ Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις απαντώνται σε περιοχές με έντονη πίεση από ανθρωπογενείς παράγοντες (π.χ. νοσοκομειακά απόβλητα, αστικά απόβλητα, εδάφη που δέχτηκαν εφαρμογές με κοπριά ή εδάφη που χρησιμοποιούνται ως βοσκοτόπια)
- ❑ Στα υγρά απόβλητα οι συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών σχετίζονται με μεταβολές στα ετήσια δεδομένα κατανάλωσης και αυξάνονται κατά τους χειμερινούς μήνες
- ❑ Οι υπολειμματικές συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών στο περιβάλλον οφείλονται όχι μόνο στην ευρεία χρήση τους αλλά και στην έμμονη φύση τους
- ❑ Ορισμένα αντιβιοτικά όπως οι πενικιλίνες διασπώνται εύκολα, ενώ άλλα όπως οι φθοριοκινολόνες, τα μακρολίδια και οι τετρακυκλίνες είναι πιο έμμονα, με αποτέλεσμα να παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον, να διασπείρονται ευρύτερα και να συσσωρεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις

Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των αντιβιοτικών

- ❑ Τα συνήθη αντιβιοτικά είναι σχετικά μικρά μόρια με μοριακή μάζα μικρότερη των 1000 Da
- ❑ Συχνά στο ίδιο μόριο συνυπάρχουν πολύπλοκα μόρια τα οποία παρουσιάζουν διαφορετικές χαρακτηριστικές ομάδες => τα αντιβιοτικά κάτω από διαφορετικές συνθήκες pH μπορεί να είναι ουδέτερα, κατιονικά, ανιονικά ή αμφιτερικά
- ❑ Εξαιτίας των διαφορετικών χαρακτηριστικών ομάδων μέσα στο ίδιο μόριο, οι φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες μπορεί να μεταβάλλονται με το pH
- ❑ Γενικά, οι φαρμακευτικές ουσίες περιέχουν όξινες ή βασικές ομάδες στο μορίό τους, όπως καρβοξυλομάδες, αμινομάδες και φαινολικές ομάδες, που έχουν διαφορετικές τιμές pKa
- ❑ Η σταθερότητα των αντιβιοτικών στο περιβάλλον επηρεάζεται από την αλληλεπίδραση διαφόρων βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων

Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

- Με την είσοδο ενός αντιβιοτικού στο περιβάλλον είναι δυνατόν αυτό να υποστεί διάφορες φυσικές και χημικές (αβιοτικές) μεταβολές καθώς επίσης και βιολογικές (βιοτικές) διεργασίες που μπορούν να οδηγήσουν στην αποδόμηση του
- Από τις σημαντικότερες αβιοτικές διεργασίες που συντελούνται είναι η προσρόφηση, η υδρόλυση, η φωτόλυση, η θερμόλυση ενώ από τις βιοτικές είναι η μικροβιακή αποδόμηση



Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

□ Προσρόφηση

- Τα αντιβιοτικά σχηματίζουν σύμπλοκα με ορυκτά της αργίλου όπως ο καολινίτης, ο μοντμοριλλονίτης και ο βερμικιουλίτης
- Η προσρόφηση των τετρακυκλινών σε ορυκτά της αργίλου μπορεί να είναι μια αντιστρεπτή διαδικασία => τα αντιβιοτικά μπορεί να εκροφόνται κάτω από κατάλληλες συνθήκες pH και ιοντικής ισχύος του εδαφικού διαλύματος στο περιβάλλον
- Τα περισσότερα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στην κτηνοτροφία προσροφώνται ισχυρά στο έδαφος και στα σωματίδια των ορυκτών της αργίλου
- Ωστόσο, ακόμα και σε αυτή τη μορφή μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα βακτήρια στα εδαφικά οικοσυστήματα

Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

☐ Υδρόλυση

- Θεωρείται ως μια από τις σημαντικότερες διεργασίες αβιοτικής διάσπασης των αντιβιοτικών
- Οι β-λακτάμες ιδιαίτερα ευαίσθητες στην υδρολυτική αποδόμηση, ενώ τα μακρολίδια και τα σουλφοναμίδια είναι λιγότερο ευαίσθητες

☐ Φωτοχημική διάσπαση – Φωτόλυση

- Συνεισφέρει στην αποδόμηση των αντιβιοτικών (όπως κινολόνες και τετρακυκλίνες) σε υδάτινα οικοσυστήματα και των αντιβιοτικών που διασπείρονται στην επιφάνεια του εδάφους κατά τη διάρκεια εφαρμογών κοπριάς γεωργικά οικοσυστήματα
- Η φωτοαποδόμηση έχει μικρότερη επίδραση στα αντιβιοτικά, που βρίσκονται στο έδαφος, επειδή αυτά εισέρχονται και δεσμεύονται στους πόρους του εδάφους, ιδιαίτερα παρουσία κοπριάς και έτσι προστατεύονται από την ηλιακή ακτινοβολία

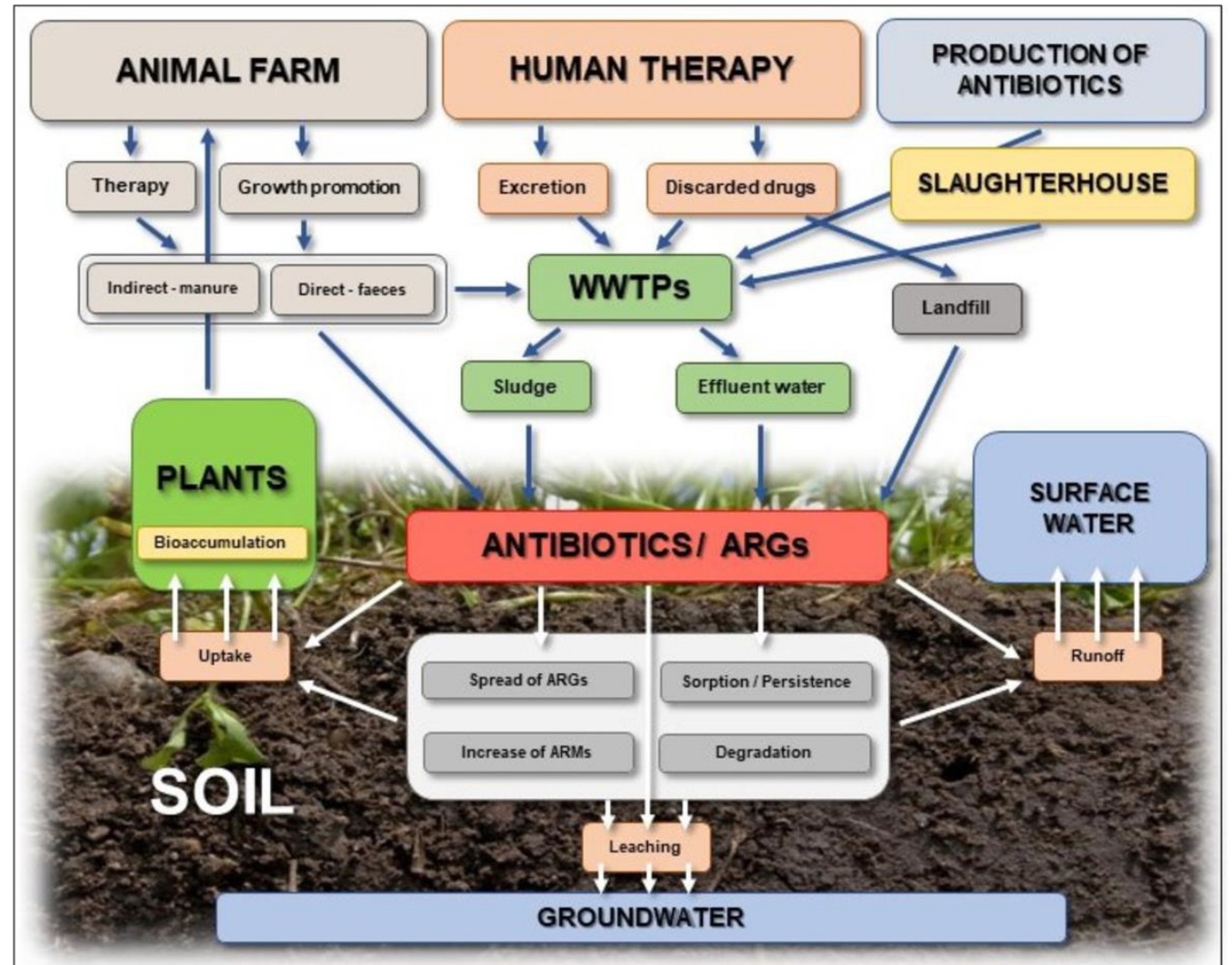
☐ Αναγωγική ή οξειδωτική μετατροπή – συμβαίνει σπανιότερα

Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

❑ Στο έδαφος, τα αντιβιοτικά υπόκεινται σε διάφορες αβιοτικές και/ή βιοτικές διεργασίες όπως:

- Αποδόμηση
- Προσρόφηση/ εκρόφηση
- Πρόσληψη από τα φυτά
- Έκπλυση
- Απορροή και μεταφορά στα υπόγεια ύδατα

Συνάρτηση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των αντιβιοτικών όπως η μοριακή δομή, το μέγεθος και το σχήμα του μορίου, τη διαλυτότητα και την υδροφοβικότητα της ένωσης



Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

❑ Μικροβιακή αποδόμηση των αντιβιοτικών

- ❑ Εκτός από τις αβιοτικές διεργασίες, η μικροβιακή αποδόμηση , μπορεί να συνεισφέρει στην απομάκρυνση των αντιβιοτικών από το έδαφος
- ❑ Κατά τη διάρκεια της μικροβιακής αποδόμησης (biodegradation), η χημική ουσία μπορεί να ανοργανοποιηθεί (mineralization-subsistence), να μετασχηματισθεί (biotransformation) σε άλλα προϊόντα αποδόμησης, τα οποία ενδέχεται να είναι τοξικά, επομένως η τύχη αυτών των προϊόντων είναι ιδιαίτερα σημαντική
- ❑ Βακτήρια που αποδομούν αντιβιοτικά έχουν απομονωθεί από επιβαρυμένα εδάφη
 - Στελέχη των γενών *Microbacterium*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Labrys*, *Ochrobactrum* και *Escherichia* βρέθηκαν ικανά να διασπούν αντιβιοτικά όπως η σουλφαμεθαζίνη, η πενικιλίνη G, η τετρακυκλίνη, η ερυθρομυκίνη κ.α. σε υγρές καλλιέργειες

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

❑ Μελέτη της μικροβιακής αποδόμησης των αντιβιοτικών στο έδαφος

- ❑ Ο κεντρικός ρόλος των μικροοργανισμών στην αποδόμηση και το μεταβολισμό των αντιβιοτικών στο έδαφος έχει επιβεβαιωθεί από πολλές μελέτες με χρήση αποστειρωμένου και μη αποστειρωμένου εδάφους
- ❑ Οι χρόνοι ημιζωής (DT_{50}) των αντιβιοτικών που καταγράφηκαν στα μη αποστειρωμένα εδάφη είναι πολύ χαμηλότεροι από τους αντίστοιχους στα αποστειρωμένα εδάφη

Παράδειγμα: εφαρμογή ερυθρομυκίνης στο έδαφος σε συγκέντρωση 0.1 mg kg^{-1} εδάφους οδήγησε σε ταχύτερη απομάκρυνση της ουσίας σε μη αποστειρωμένο έδαφος συγκριτικά με το αποστειρωμένο έδαφος με $DT_{50} = 6.4$ και 40.8 ημέρες, αντίστοιχα

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

□ Η μικροβιακή αποδόμηση των αντιβιοτικών στο έδαφος εξαρτάται από:

- Την καταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών του εδάφους
 - Τις ιδιότητες του εδάφους όπως η περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, pH, υφή του εδάφους
 - Την παρουσία ή απουσία του οξυγόνου
 - Τις περιβαλλοντικές συνθήκες όπως θερμοκρασία, υγρασία, βροχοπτώσεις κ.α.
 - Την συγκέντρωση του αντιβιοτικού
- υψηλές συγκεντρώσεις επιτείνουν την εμμόνη των αντιβιοτικών στο έδαφος εξαιτίας της παρεμπόδισης της δραστηριότητας των μικροοργανισμών
- Την παρουσία/απουσία εναλλακτικών πηγών άνθρακα και αζώτου

Περιβαλλοντική τύχη των αντιβιοτικών

□ Η αποδόμηση των αντιβιοτικών στο έδαφος εξαρτάται από:

- Το ιστορικό της εφαρμογής των αντιβιοτικών
- ✓ Επαναλαμβανόμενες εφαρμογές αντιβιοτικών όπως τα μακρολίδια, κλαριθρομυκίνη και ερυθρομυκίνη προκάλεσε μείωση του DT_{50} από 36.48 και 69.93 ημέρες σε 15.85 και 4.36 ημέρες (σε έδαφος με ιστορικό εφαρμογής της clarithromycin και erythromycin σε επίπεδα 0.1 mg/kg soil) και σε 9.51 και 0.94 ημέρες (έδαφος με ιστορικό εφαρμογής clarithromycin και erythromycin =10mg/kg soil), αντίστοιχα
- Η προσθήκη διαφορετικών οργανικών ουσιών όπως κοπριά, ή εδαφοβελτιωτική κομπόστα μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή στο ρυθμό αποδόμησης των αντιβιοτικών στο έδαφος
- Καθώς πολλοί βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες επηρεάζουν την αποδόμηση των αντιβιοτικών, ο ρυθμός αποδόμησης των διαφορετικών ομάδων αντιβιοτικών στο έδαφος ποικίλει με το χρόνο ημιζωής τους να κυμαίνεται από <1 έως και 3,466 ημέρες

Περιβαλλοντικές επιδράσεις αντιβιοτικών

- ❑ Τα αντιβιοτικά σχεδιάζονται ώστε να επηρεάζουν μικροοργανισμούς παθογόνους για τον άνθρωπο και τα ζώα => δυνητικά επικίνδυνα και για άλλους οργανισμούς του περιβάλλοντος, εκτός στόχου δράσης
- ❑ Αυξημένη διάρκεια δράσης και αποτελεσματικότητα => περιορισμένη βιοαποδόμηση => αυξημένη πιθανότητα για βιοσυσσώρευση και παραμονή στο περιβάλλον
- ❑ Τα τοξικά επίπεδα των αντιβιοτικών για μικροοργανισμούς, βακτήρια και μικροφύκη στο περιβάλλον είναι 2-3 τάξεις μεγέθους χαμηλότερα από τα αντίστοιχα τοξικά επίπεδα για τους ανώτερους οργανισμούς
- ❑ Ωστόσο, άγνωστες παραμένουν οι επιδράσεις σε βάθος χρόνου ή μιγμάτων αυτών των ουσιών

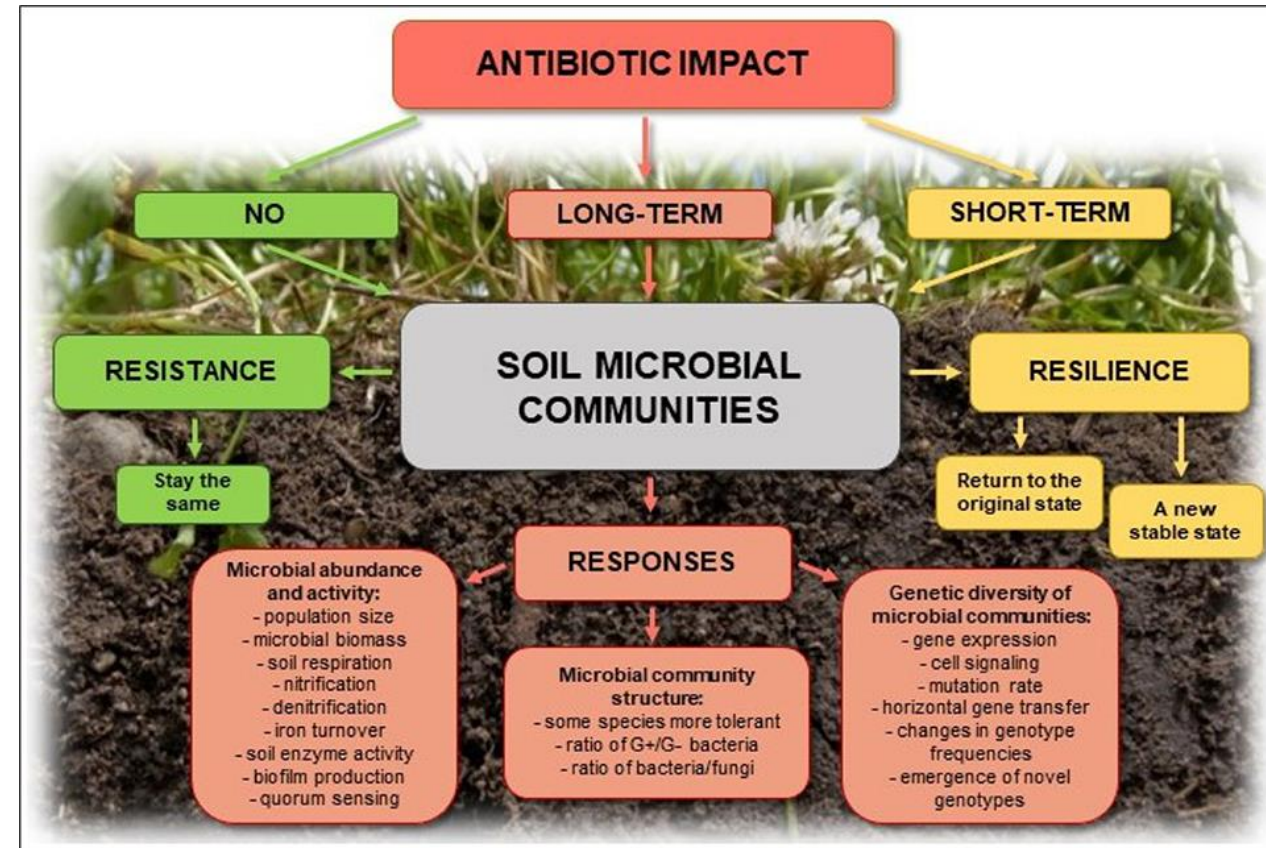
Περιβαλλοντικές επιδράσεις αντιβιοτικών

□ Συνεργιστική δράση

- Πιθανότητα συνύπαρξης και συνεργιστικής δράσης δύο ή περισσότερων αντιμικροβιακών παραγόντων
 - Για παράδειγμα, στα εκτρεφόμενα ζώα χορηγείται συνδυασμός σουλφοναμίδια και τριμεθοπρίμης => ο συνδυασμός των αντιβιοτικών μπορεί να δρα συνεργιστικά
 - Η χρησιμοποίηση συνδυασμού αντιβιοτικών, όπως σουλφαδιαζίνης και τριμεθοπρίμης σε πειράματα αναστολής της ανάπτυξης ειδών μικροφυκών, έδειξε μεγαλύτερη τοξικότητα για το συνδυασμό τους από αυτή που προκαλείται από το άθροισμα των τοξικοτήτων που παρουσιάζουν το καθένα μόνο του

Επίδραση των αντιβιοτικών στις φυσικές μικροβιακές κοινότητες

- ❑ Οι μικροοργανισμοί του εδάφους επιτελούν πολλές διεργασίες ζωτικής σημασίας για την υγεία και την ποιότητα του εδάφους
- Συμμετέχουν στην ανοργανοποίηση της οργανικής ύλης, στην ανακύκλωση των θρεπτικών, στη σταθερότητα της δομής του εδάφους και διασφαλίζουν τη γονιμότητα του εδάφους
- Πολλοί μικροοργανισμοί λειτουργούν σαν βιολογικοί παράγοντες ελέγχου των πληθυσμών των παθογών
- ❑ Τα αντιβιοτικά στο έδαφος μπορεί να επηρεάσουν διαφορετικά την αύξηση των μικροοργανισμών και τη δομή των μικροβιακών κοινοτήτων => μεταβολή στην οικολογική λειτουργικότητα του εδάφους



Επίδραση των αντιβιοτικών στις φυσικές μικροβιακές κοινότητες

□ Άμεση επίδραση

□ Η δράση τους επεκτείνεται και σε οργανισμούς εκτός στόχου δράσης

- Μείωση της αφθονίας των μικροβιακών πληθυσμών
- Παρεμπόδιση της λειτουργίας μικροβιακών ομάδων με σημαντικό οικολογικό ρόλο (βιογεωχημικοί κύκλοι, δραστικότητες ενζύμων κ.α.)
- Μεταβολή της δομής των μικροβιακών κοινοτήτων

⇒ μεταβολές στη σχετική αφθονία των διαφόρων ειδών των μικροοργανισμών και στις μεταξύ των ειδών αλληλεπιδράσεις

- Μείωση μικροβιακής ποικιλότητας

□ Οι επιδράσεις αυτές εξαρτώνται από τις μικροβιακές ομάδες, τα περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά, τις συγκεντρώσεις των αντιβιοτικών και τη διάρκεια της έκθεσης

Επίδραση των αντιβιοτικών στις φυσικές μικροβιακές κοινότητες

□ Παραδείγματα της επίδρασης των αντιβιοτικών σε οργανισμούς μη στόχους

- Μείωση μικροβιακής αναπνοής
- Αλλαγή στους ρυθμούς νιτροποίησης – απονιτροποίησης
- Αλλαγές στις δραστηκότητες ενζύμων (όπως διυδρογονάσες, οι φωσφατάσες και οι ουρεάσες) που αποτελούν δείκτη της ικανότητας των μικροβιακών κοινοτήτων να επιτελούν βιοχημικές διεργασίες
- Μεταβολή της ικανότητας τους να χρησιμοποιούν διάφορα οργανικά υποστρώματα

Επίδραση των αντιβιοτικών στις φυσικές μικροβιακές κοινότητες

□ Έμμεση επίδραση

- Οι χαμηλές συγκεντρώσεις αντιβιοτικών (π.χ. ng L⁻¹ ή ng Kg⁻¹ εδάφους) μπορεί να προκαλέσουν μεγάλης διάρκειας έμμεσες επιδράσεις σε μεμονωμένα είδη μικροοργανισμών ή σε μικροβιακές κοινοπραξίες που δεν επηρεάζονται άμεσα από την παρουσία τους
- “Χαμηλές συγκεντρώσεις” => μη τοξικές, μη παρεμποδιστικές
- Οι συγκεντρώσεις αυτές μπορούν και δρούν με 3 διαφορετικούς τρόπους:
 - Επιλογή ανθεκτικότητας
 - Γενετική και φαινοτυπική ποικιλότητα
 - Σηματοδοτικά μόρια
- **Ανάπτυξη ικανότητας βιοαποδόμησης των αντιβιοτικών και λοιπών φαρμακευτικών ουσιών**

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση

- ❑ Πιθανή βιοτεχνολογική αξιοποίηση των μικροοργανισμών που αποδομούν τα αντιβιοτικά στο περιβάλλον σε συστήματα βιοαπορύπανσης – βιοεξυγίανσης και βιοεμπλουτισμού
- ❑ Ορισμένες μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση μεταξύ της παραγωγής γονιδίων ανθεκτικότητας και της δυνατότητας αποδόμησης των αντιβιοτικών, ενώ άλλες δεν έδειξαν να υπάρχει καποιος παραλληλισμός

π.χ. δεν βρέθηκε να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της αποδόμησης της doxycycline από τα *Candida* sp. και *Escherichia* sp.

- ❑ Ανάλογες περιπτώσεις μπορούν να αποτελέσουν μια υποσχόμενη και οικολογικά-φιλική προοπτική για την κατασκευή βακτηρίων που αποδομούν αντιβιοτικά

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

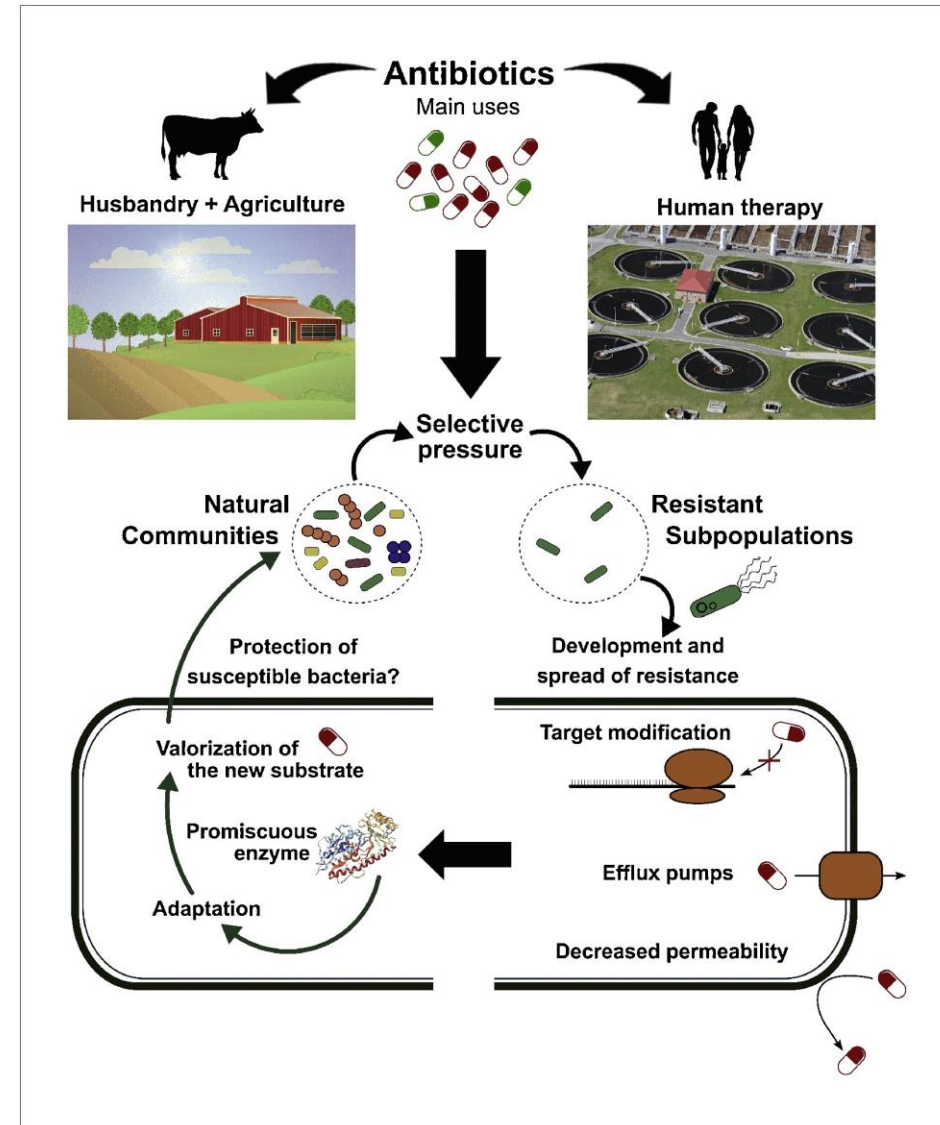
❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση

- ❑ Οι μικροοργανισμοί αυτοί αντιπροσωπεύουν εναλλακτική πηγή χρήσιμων ενζύμων όπως διάφορες κυτταρινάσες, πρωτεάσες ή λιπάσες με ευρεία χρήση στη βιοτεχνολογία, τη βιομηχανία και τη φαρμακευτική

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση

- ❑ Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν ότι οι μικροοργανισμοί που αποδομούν τα αντιβιοτικά έχουν τη δυνατότητα να προστατεύσουν τα ευαίσθητα στις ουσίες αυτές βακτήρια και με αυτόν τον τρόπο να αποτρέψουν την ανάπτυξη ανθεκτικότητας
- ❑ Ωστόσο, η διάχυση των γονιδίων αυτών των μικροοργανισμών που εμπλέκονται στη διάσπαση των αντιβιοτικών μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων => η χρήση ανάλογων μικροοργανισμών σε βιοτεχνολογικές εφαρμογές θα πρέπει να αξιολογείται με ιδιαίτερη προσοχή



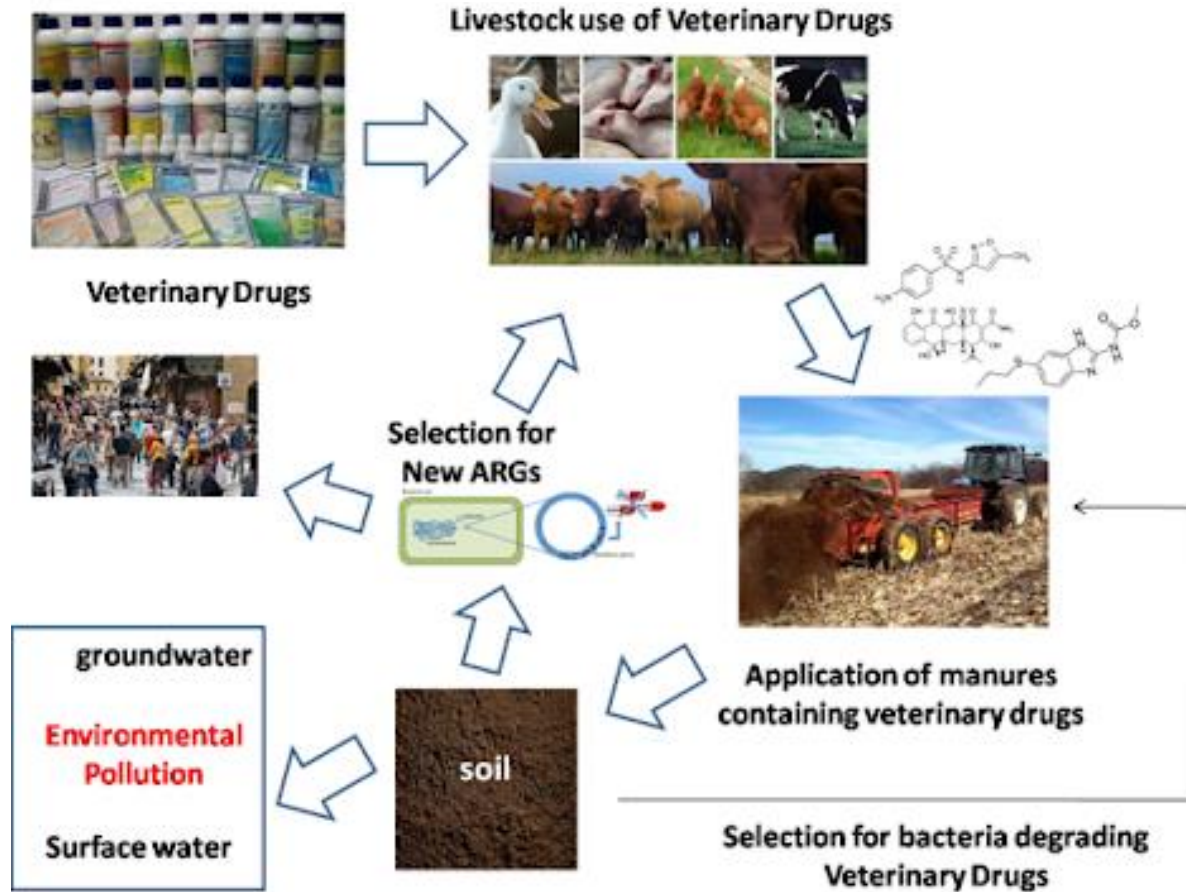
Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

❑ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση

- ❑ Ορισμένοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η αποδόμηση - μεταβολισμός των αντιβιοτικών ενέχει υψηλό μεταβολικό κόστος, με υψηλή επιβάρυνση για την προσαρμοστική ικανότητα του μικροοργανισμού γεγονός που περιορίζει τις πιθανότητες για τη διάχυση και την επικράτηση του χαρακτηριστικού αυτού σε κάποιο δεδομένο μικροβιακό πληθυσμό
- ❑ Από την άλλη πλευρά πολλές μέλέτες έχουν δείξει ότι ακόμα και γονίδια με υψηλό κόστος στην προσαρμοστική ικανότητα είναι πιθανόν να διατηρούνται στους φυσικούς πληθυσμούς μέσω μεταλλάξεων, οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς και συνεπιλογής
- ❑ Επιστάμενη έρευνα πριν τη χρήση των μικροοργανισμών που έχουν την ικανότητα να αποδομούν τα αντιβιοτικά ως εργαλεία βιοαπορρύπανσης

Μικροβιακή αποδόμηση αντιβιοτικών

□ Βιοτεχνολογική αξιοποίηση



Μικροβιακή αποδόμηση κτηνοτροφικών φαρμακευτικών ουσιών (αντιβιοτικών και ανθελμινθικών) ως μέθοδος για τη μείωση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης από τη διασπορά γονιδίων ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

Veterinary antibiotics (VAs) and anthelmintics (AHs) are used to control microbial and parasitic infestations in livestock farming respectively. These compounds are not metabolized in the animals' body and animal excretes containing VAs and AHs are used as soil manures facilitating the dispersion of VA and AHs residues to agricultural soils. This imposes significant pressure in the soil microbial community for selection and further dispersal of resistant traits for VAs and constitutes a threat for water quality since VAs could move from soil to aquifers and some AHs like benzimidazoles are particularly persistent in the environment. To date little is known about the biodegradation of these veterinary drugs. It was recently shown that the continuous soil exposure to sulfonamides and macrolides could select for resistance and for VA-degrading traits. Today only a few VA-degrading bacteria are available and nothing is known about the biodegradation of AHs. Bacteria carrying biodegradation traits against these veterinary drugs could be exploited for the bioaugmentation of contaminated manures and soils. We aim to explore the complex interactions of veterinary drugs with soil microorganisms, look into evolutionary mechanisms that drive the selection (antibiotic resistance vs biodegradation traits) and exploit biodegradation to avert environmental threats by VAs and AHs.