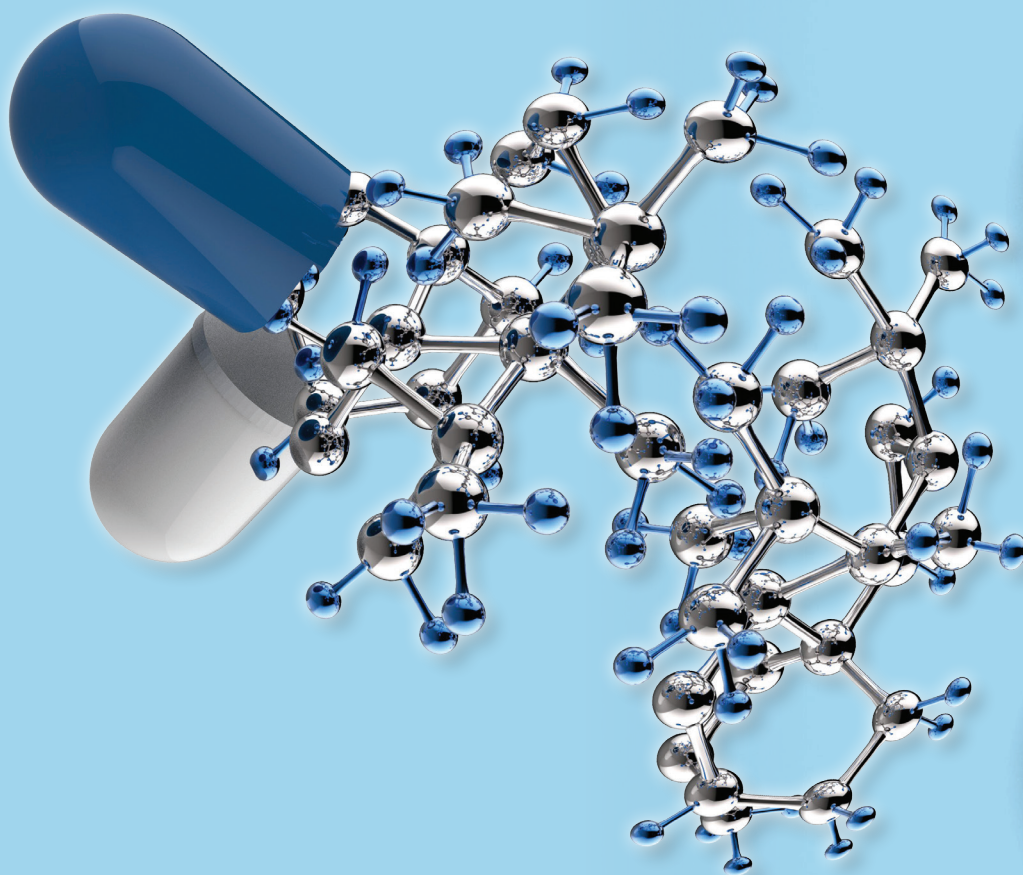


ISSN 1105-4999



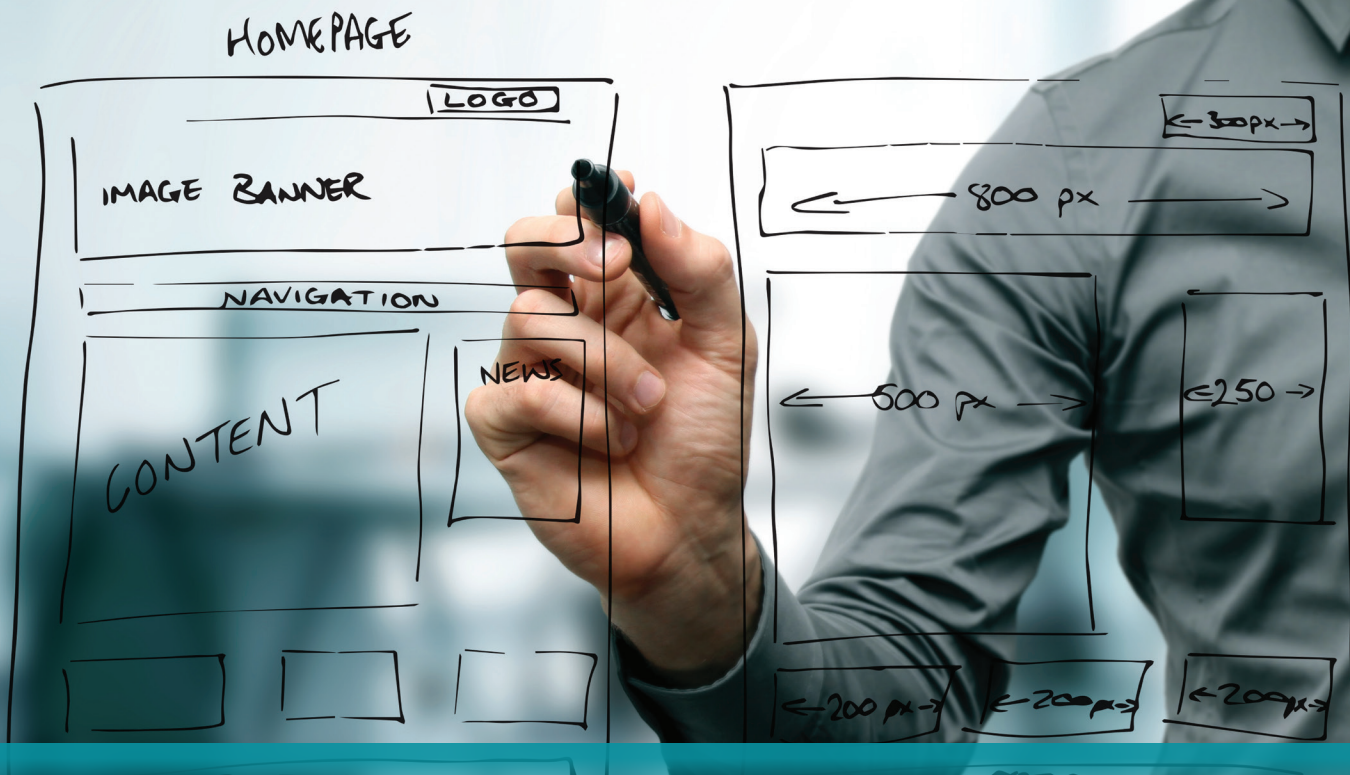
# ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ PHARMAKEFTIKI

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
A QUARTERLY EDITION ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS



ΤΟΜΟΣ 32 • ΤΕΥΧΟΣ IV  
VOLUME ISSUE

ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ - ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2020  
OCTOBER - DECEMBER



# ZiTA MEDICAL MANAGEMENT

*Έχουμε τη τεχνογνωσία και την εξειδίκευση στον χώρο της Υγείας...  
Το αξιοποιούμε για να κάνουμε τους στόχους σας πραγματικότητα!*

**Η ZITA Medical Management** είναι εταιρεία που ανήκει στην **ZITA Group** και δραστηριοποιείται στο χώρο της παροχής εξειδικευμένων υπηρεσιών management και marketing, σε επιστημονικές εταιρείες, ομίλους και επαγγελματίες, κυρίως από τον χώρο της υγείας. Ηλεκτρονική επικοινωνία, digital marketing, έντυπες και ηλεκτρονικές εκδόσεις και χορηγίες, είναι μερικές από τις βασικές υπηρεσίες, που τα έμπειρα στελέχη μας και η εμπειρία των 36 χρόνων εγγυώνται την **αποτελεσματικότητα στην ελληνική και διεθνή αγορά.**

- Σχεδιασμός, ανάπτυξη, διαχείριση ιστοσελίδων
- Αναβάθμιση & Hosting του ήδη υπάρχοντος Website
- Δημιουργία η αναβάθμιση των ήδη υπαρχόντων Social Media
- Έντυπες & Ηλεκτρονικές Εκδόσεις
- Ειδικά τροποποιημένο λογισμικό για τη δημιουργία επιστημονικού ηλεκτρονικού περιοδικού
- Καθορισμός στρατηγικής Online Προώθησης (Digital Strategy)
- Προσδιορισμός στόχου (targeting)
- Διαχείριση λογαριασμών και δράσεων προβολής



*Επικοινωνήστε μαζί μας για ένα ενημερωτικό ραντεβού... θα σας κοστίσει τίποτα*

[www.zita-group.com/zita-medical-management/](http://www.zita-group.com/zita-medical-management/)

Γεράσιμος Κουλουμπής

Ομήρου 29, Πέτα Σαρωνικού, 190 01, Τηλ: +30 22994 40962,

E-mail: [g.kouloumpis@zita-management.com](mailto:g.kouloumpis@zita-management.com)

## ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ ΜΕ ΘΕΜΑΤΑ  
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΟΣ 32, ΤΕΥΧΟΣ IV,  
ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ - ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2020

### ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

**A. Τσαντίλη**

Ομοτ. Καθηγήτρια, Εθνικό και Καποδιστριακό  
Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΕΚΠΑ)  
tsantili@pharm.uoa.gr

### ΑΡΧΙΣΥΝΤΑΚΤΗΣ

**Γ.Α. Καρίκας**

Ομότιμος καθηγητής, Πανεπιστήμιο  
Δυτικής Αττικής, karikasg@uniwa.gr

### ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Κ. Δεμέτζος**

Καθηγητής, ΕΚΠΑ

**B. Δημόπουλος**

Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΑΠΘ

**N. Κόλμαν**

Galenica SA

**X. Κοντογιώργης,**

Επ. Καθηγητής, Δ.Π.Θ.

**Π. Κουρουνάκης**

Ομοτ. Καθηγητής,

Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, ΑΠΘ

**Π. Μαχαίρας**

Ομοτ. Καθηγητής, ΕΚΠΑ

**Σ. Νικολαρόπουλος**

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

**Γ. Πάιρας**

Αναπλ. Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Πατρών

**Ε. Παντερή**

Καθηγήτρια, ΕΚΠΑ

**Δ. Ρέκκας**

Αναπλ. Καθηγητής, ΕΚΠΑ

## PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY EDITION  
ON PHARMACEUTICAL SCIENCES' TOPICS  
VOLUME 32, ISSUE IV,  
OCTOBER - DECEMBER 2020

### EDITOR

**A. Tsantili**

Emeritus Professor, National and Kapodistrian  
University of Athens (NKUA)  
tsantili@pharm.uoa.gr

### CO EDITOR

**G.A. Karikas**

Emeritus professor, University of West Attica,  
Greece, karikasg@uniwa.gr

### EDITORIAL BOARD

**C. Demetzos**

Professor, NKUA

**V.J. Demopoulos**

Professor, University of Thessaloniki, AUTH

**N. Kolman**

Galenica SA

**Ch. Kontogiorgis**

Assistant Professor, D.U.Th.

**P. Kourounakis**

Emeritus Professor,

University of Thessaloniki, AUTH

**P. Macheras**

Emeritus Professor, NKUA

**S. Nikolaropoulos**

Associate Professor, University of Patras

**G. Pairas**

Associate Professor, University of Patras

**I. Panderi**

Professor, NKUA

**D. Rekkas**

Associate Professor, NKUA

Οδηγίες προς συγγραφείς/Authors guidelines: <https://www.hsmc.gr/author-guidelines/>

E-mail για υποβολή εργασιών:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@uniwa.gr

Για την ηλεκτρονική έκδοση της «Φαρμακευτικής»  
και οδηγίες προς συγγραφείς  
επισκεφτείτε την διεύθυνση: [www.hsmc.gr](http://www.hsmc.gr)

E-mail for manuscript submission:

tsantili@pharm.uoa.gr, karikasg@uniwa.gr

For "Pharmakeftiki" electronic edition  
and instructions to authors  
please visit [www.hsmc.gr](http://www.hsmc.gr)

Τα άρθρα που δημοσιεύονται  
στην «Φαρμακευτική» καταχωρούνται  
στα Chemicals Abstracts, EMBASE,  
SCOPUS και EBSCO

Articles published in "Pharmakeftiki"  
are indexed in Chemical Abstracts,  
EMBASE, SCOPUS and EBSCO





ZiTA CONGRESS ZiTA MEDICAL MANAGEMENT

ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ  
**ΩΥΘ**  
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΥΓΕΙΑ ΟΜΟΡΦΙΑ

ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΥΓΕΙΑ ΟΜΟΡΦΙΑ  
**ΩΥΘ** FORUM

## Στηρίζουμε κάθε σας δημιουργική σκέψη & προσπάθεια διάχυσης επιστημονικής γνώσης

- Διοργάνωση συνεδρίων, εκθέσεων, πολιτιστικών εκδηλώσεων και ταξιδίων κινήτρων
- Διαχείριση ιατρικών εταιρειών και οργανισμών
- Website και Ηλεκτρονικό Marketing
- Επιστημονικές Εκδόσεις Περιοδικών
- Χορηγίες
- Γραφιστικό - Δημιουργικό
- Γραμματειακή Υποστήριξη
- Τουρισμός Υγείας
- Νοσοκομειακό Marketing
- Γραφείο Τύπου



[www.zita-group.com](http://www.zita-group.com)

Ομήρου 29, Πέτα Σαρωνικού, 190 01, Αττική, Ελλάδα

Τηλ: +30 22994 40962, Φαξ: +30 22990 66029

[k.ge@zita-congress.gr](mailto:k.ge@zita-congress.gr), [info@zita-congress.gr](mailto:info@zita-congress.gr), [info@zita-management.com](mailto:info@zita-management.com)

Follow us



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ / CONTENTS

## Στόχοι και Θεραπευτικά Μέσα για την Αντιμετώπιση του Ιού SARS-CoV-2

Σοφία Κ. Κωνσταντινίδου,

Ιωάννης Π. Παπαναστασίου ..... 158-185

## Προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών για την ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών και την πρόληψη της μικροβιακής αντοχής

Άννα Μαρία Λάβη, Σοφία Μαρκαντώνη-Κυρούδη... 186-201

## Determination of Carbohydrates of Chrysanthemum morifolium L. Leaves and Flowers by GC-MS

Svitlana Marchyshyn, Olha Polonets, Alona Savych,

Sofia Nakonechna ..... 202-212

Εκδηλώσεις ..... 213

## Targets and Therapeutic Agents against SARS-CoV-2

Sofia K. Konstantinidou,

Ioannis P. Papanastasiou ..... 158-185

## Antimicrobial Stewardship Programs for the rational use of antibiotics and the prevention of antimicrobial resistance

Anna Maria Lavis, Sophia Markantonis-Kyroudis ... 186-201

## Determination of Carbohydrates of Chrysanthemum morifolium L. Leaves and Flowers by GC-MS

Svitlana Marchyshyn, Olha Polonets, Alona Savych,

Sofia Nakonechna ..... 202-212

Meetings..... 213

## ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ  
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ ΦΑΡΜΑΚΟΧΗΜΕΙΑΣ  
& ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ  
ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

## PHARMAKEFTIKI

A QUARTERLY JOINT EDITION OF  
THE HELLENIC SOCIETY OF  
MEDICINAL CHEMISTRY &  
THE HELLENIC PHARMACEUTICAL SOCIETY

**ZiTA**  
MEDICAL  
MANAGEMENT

ZITA MEDICAL MANAGEMENT, Ομήρου 29Α, Πέτα Σαρωνικού, Ελλάδα  
Τηλ.: + 30 22994 40962, Fax: 22990 66029, E-mail: g.kouloumpis@zitamanagement.com

# Στόχοι και Θεραπευτικά Μέσα για την Αντιμετώπιση του Ιού SARS-CoV-2

Σοφία Κ. Κωνσταντινίδου<sup>1\*</sup> και Ιωάννης Π. Παπαναστασίου<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Α' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών & Διαβητολογικό Κέντρο, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Λαϊκό», ΕΚΠΑ, Αθήνα, 11527, Υπότροφος Ιδρύματος Ωνάση

<sup>2</sup>Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, ΕΚΠΑ, Αθήνα 157 84

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:**  
κορωνοϊός SARS-CoV-2; νόσος COVID-19; θεραπευτικά μέσα; εμβόλια; διαγνωστικά  
**ΤΕΣΤ**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο νέος κορωνοϊός 2019 (SARS-CoV-2) εμφανίστηκε αρχικά στην επαρχία Ουχάν της Κίνας, και εξαπλώθηκε παγκοσμίως προκαλώντας πανδημία στις αρχές του 2020 με σοβαρές κοινωνικοοικονομικές επιπτώσεις. Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στη νόσο COVID-19, τον αναπαραγωγικό κύκλο του SARS-CoV-2 σε κύτταρα ξενιστές, καθώς και στους στόχους των φαρμάκων κατά του SARS-CoV-2 και τη θεραπευτική χρήση τους. Προς το παρόν, καθώς δεν υπάρχει αποτελεσματική προφύλαξη ή θεραπεία για τη νόσο COVID-19, πολλά ήδη εγκεκριμένα φάρμακα, που έχουν αναπτυχθεί για άλλες χρήσεις, εξετάζονται ως πιθανές θεραπείες για τη συγκεκριμένη νόσο, καθώς επίσης βρίσκονται σε εξέλιξη διαφορετικές ερευνητικές στρατηγικές, προκειμένου να αξιολογηθεί η θεραπευτική αποτελεσματικότητα πειραματικών φαρμάκων και εμβολίων. Οι κατηγορίες φαρμάκων, που εξετάζονται, είναι οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης II, αναστολείς της πρωτεάσης τύπου σερίνης II, αναστολείς του υποδοχέα CD147, αντι-ιικά φάρμακα, καρδιοπροστατευτικοί παράγοντες και αντιφλεγμονώδεις ενώσεις. Επίσης, αναφέρονται οι ευεργετικές προοπτικές των διαφόρων υπό ανάπτυξη εμβολίων και διαγνωστικών εξετάσεων.

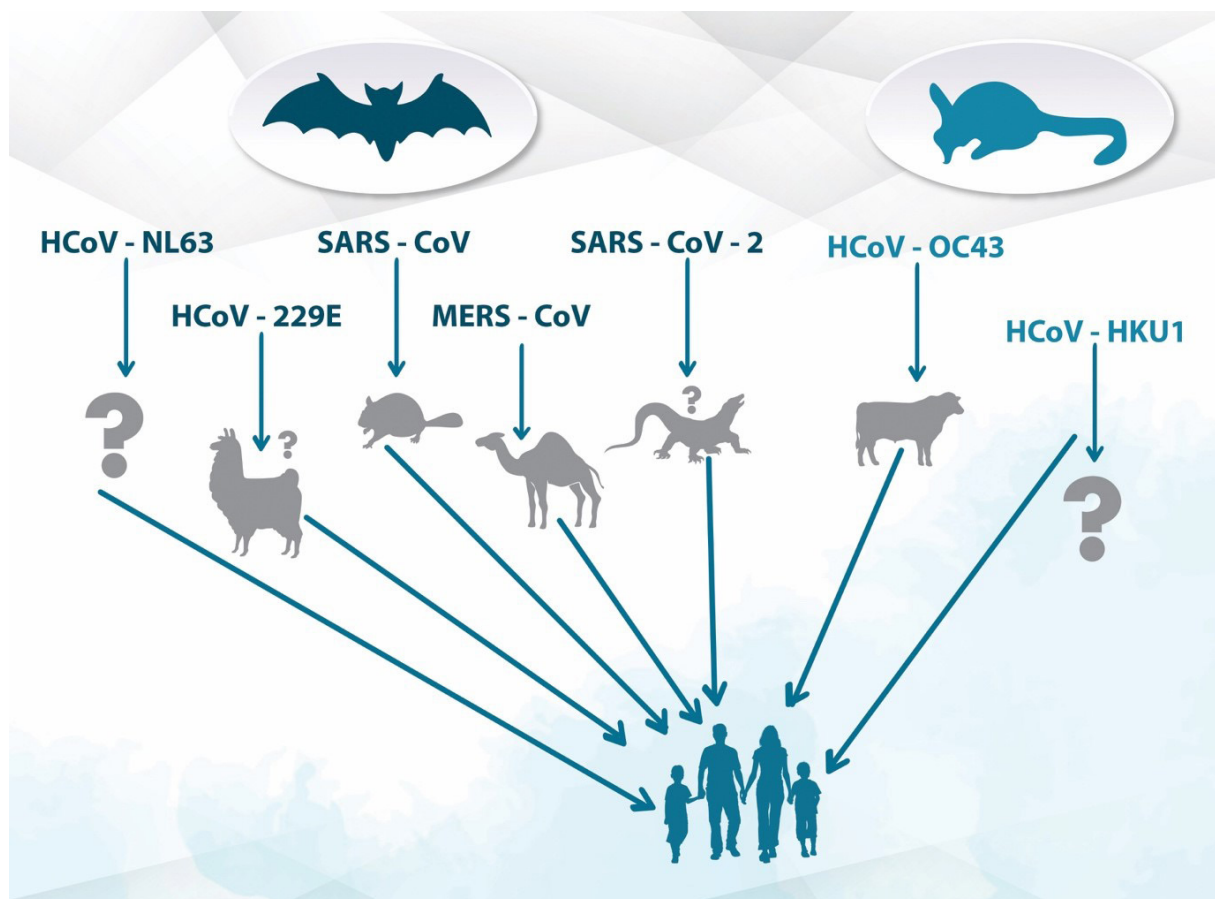
**\* ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ  
ΑΛΛΗΛΟΓΡΑΦΙΑΣ:**

Ιωάννης Π. Παπαναστασίου  
papanastasiou@pharm.uoa.gr

## 1. Εισαγωγή

Ο νέος κορωνοϊός 2019 (SARS-CoV-2) εμφανίστηκε αρχικά στην επαρχία Ουχάν της Κίνας, και εξαπλώθηκε παγκοσμίως προκαλώντας πανδημία στις αρχές του 2020<sup>1</sup>. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ανακοίνωσε το όνομα της νέας νόσου, ως Coronavirus Disease 19 (COVID-19), η δε ομάδα μελέτης Coronaviridae (CSG) της Διεθνούς Επιτροπής για την ταξινόμηση των ιών, ταξινόμη-

σε το νέο κορωνοϊό, ως Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)<sup>2</sup>. Αυτό το αναπνευστικό παθογόνο ανήκει στην οικογένεια των Coronaviridae, η οποία απαρτίζεται από τέσσερα γένη: α, β, γ και δ, βάσει του γονιδιώματός τους<sup>3</sup>. Οι ιοί από τα δυο πρώτα γένη μολύνουν τα θηλαστικά, ενώ τα στελέχη 229E και NL63 είναι υπεύθυνα για το κοινό κρυολόγημα και ανήκουν στο α-γένος (σχήμα 1). Οι κορωνοϊοί έχουν ταυτοποιηθεί από τα μέσα της δεκαετίας του 1960. Ωστόσο, η πίεση



**Σχήμα 1:** Σχηματική απεικόνιση της μετάδοσης διαφορετικών στελεχών κορωνοϊών από τους φυσικούς τους ξενιστές (νυχτερίδες ή τρωκτικά) στους ενδιάμεσους ξενιστές (θηβητιανές γάτες, αραβικές καμήλες, παγκολίνους ή βοοειδή) και τελικά στον άνθρωπο. Τα στελέχη των κορωνοϊών NL63, 229E, OC43 και HKU1 είναι υπεύθυνα για τον απλό τύπο του κρυολογήματος<sup>7</sup>.

της φυσικής επιλογής, κατά τη συμβίωση των κορωνοϊών (CoVs) και των ξενιστών τους, συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων, οδήγησαν, για χιλιάδες χρόνια, στην εξελικτική προσαρμογή των κορωνοϊών. Για πρώτη φορά, το 2003, ένα στέλεχος κορωνοϊού συσχετίστηκε με το Σοβαρό Οξύ Αναπνευστικό Σύνδρομο (SARS), και προέκυψε η συνειδητοποίηση του θανατηφόρου κινδύνου και της σημασίας των μολυσματικών στελεχών των κορωνοϊών. Το 2012, ένας νέος ζωονοσογόνος κορωνοϊός, της Μέσης Ανατολής (MERS-CoV), συσχετίστηκε με το σύνδρομο SARS με ποσοστό θνητότητας 36%<sup>4</sup>. Τα δύο αυτά στελέχη ανήκουν στο β-γένος. Η φυλογενετική

ανάλυση αποκάλυψε ότι ο SARS-CoV-2 διαφέρει αρκετά από τον SARS-CoV (~79%) και τον MERS-CoV (~50%), μολονότι ανήκει στο ίδιο γένος. Σε σύγκριση με τα δύο τελευταία στελέχη, ο SARS-CoV-2 εμφανίζει μικρότερο ποσοστό θνητότητας, αλλά η εξάπλωσή του είναι μεγαλύτερη. Το ένα τρίτο του παγκόσμιου πληθυσμού τέθηκε σε περιορισμό καραντίνας, καθώς οι κατά τόπους αρχές εφάρμοσαν σειρά μέτρων για την επιβράδυνση της εξάπλωσης της μόλυνσης, τα οποία περιελάμβαναν από απλές συστάσεις έως και τον υποχρεωτικό γεωγραφικό αποκλεισμό (καραντίνα). Προς το παρόν, καθώς δεν υπάρχει αποτελεσματική προφύλαξη ή θεραπεία για τη νόσο COVID-19,

η παγκόσμια κοινότητα έχει επιταχύνει την έρευνα για φάρμακα και εμβόλια έναντι αυτής της απειλής. Λόγω της επείγουσας κατάστασης, πολλά ήδη εγκεκριμένα φάρμακα του εμπορίου δοκιμάζονται, ως προς τη θεραπευτική επαναστόχευση/αναθεώρηση της δράσης τους<sup>5,6</sup>.

## 2. Η νόσος

Η νόσος COVID-19 προκαλείται από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο και φαίνεται να παρουσιάζει ένα φάσμα κλινικών συμπτωμάτων, τα οποία κυμαίνονται από συμπτώματα, που δεν είναι εμφανή (ασυμπτωματικοί ασθενείς) έως την εκδήλωση σοβαρής αναπνευστικής δυσχέρειας.

Οι ασθενείς με COVID-19 είναι πιθανόν να εκκρίνουν και να μεταδίδουν τον νέο κορωνοϊό, 2 έως 3 ημέρες πριν εκδηλωθούν τα πρώτα συμπτώματα της νόσου. Συνήθως, οι ασθενείς, που έχουν μολυνθεί από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2 είναι ασυμπτωματικοί για 5 μέρες, κατά μέσο όρο, όσο δηλαδή διαρκεί η επώαση του ιού. Σχεδόν όλοι οι συμπτωματικοί ασθενείς (97,5%) έχουν εμφανίσει τα συμπτώματα της νόσου εντός 12 ημερών από την έκθεσή τους στον ιό και την έναρξη της λοίμωξης, γεγονός που δικαιολογεί την έως τώρα εφαρμοζόμενη απομόνωση (καραντίνα) για 14 μέρες. Η μετάδοση της νόσου COVID-19 γίνεται κυρίως μέσω της επαφής με σταγονίδια, που μεταφέρουν ιικό φορτίο και τα οποία παράγονται, όταν ο ασθενής ομιλεί, βήχει ή φτερνίζεται ή μέσω σταγονιδίων από τη σίελο ή από τη ρινική κοιλότητα. Ο νέος κορωνοϊός SARS-CoV-2 μπορεί να μεταφέρεται και ως αερόλυμα, εκτός από μεγάλα σταγονίδια. Μικροσκοπικά ιικά σωματίδια μπορούν να παραμείνουν στον αέρα και να μολύνουν τους ανθρώπους και σε απόσταση μεγαλύτερη του 1,5 μέτρου. Για την αποφυγή μετάδοσης είναι πολύ σημαντική η εφαρμογή μέτρων ατομικής υγιεινής (πλύσιμο χεριών), η χρήση μάσκας και η αποφυγή συγχρωτισμού.

Η κοινή συμπτωματολογία, κατά την έναρξη της ασθένειας, περιλαμβάνει πυρετό ή ρίγος, βήχα, πονόλαιμο, δύσπνοια ή δυσκολία στην αναπνοή, ρινική συμφόρηση ή καταρροή, κόπωση ή γενική μυαλγία,

απώλεια της γεύσης και της οσμής. Λιγότερο κοινά συμπτώματα είναι η παραγωγή πτυέλων, ο έμετος ή ναυτία, ο πονοκέφαλος και η διάρροια. Ιδιαίτερη αναφορά γίνεται σε ένα λιγότερο συχνό σύμπτωμα της νόσου COVID-19, την εμφάνιση επιπεφυκίτιδας. Ο λόγος αυτής της επισημάνσης είναι ότι η μόλυνση και η μετάδοση της νόσου μπορεί να γίνει και μέσω σταγονιδίων από τον επιπεφυκότα χιτώνα του οφθαλμού. Η αμερικανική οφθαλμολογική ακαδημία (AAO), όπως και άλλοι επίσημοι φορείς συστήνουν να υπάρχει προστασία του στόματος, της μύτης και των ματιών για την πρόληψη της μετάδοσης της νόσου, καθώς έχουν αναφερθεί περιστατικά μετάδοσης από ασυμπτωματικούς για COVID-19 ασθενείς με επιπεφυκίτιδα κατά την εξέταση τους σε οφθαλμολογικές κλινικές ή τμήματα<sup>8</sup>.

Αρχικά, κατά την ανάλυση των κρουσμάτων<sup>9-11</sup> στην Κίνα, έως τα μέσα Φεβρουαρίου 2020, διαπιστώθηκε ότι το 14% των περιπτώσεων συσχετίστηκε με σοβαρή νόσο (δύσπνοια, αναπνευστική συχνότητα  $\geq 30$  / λεπτό, κορεσμός οξυγόνου στο αίμα  $\leq 93\%$ , κλάσμα μερικής πίεσης αρτηριακού οξυγόνου προς εισπνεόμενο οξυγόνο  $<300$ , ή / και πύκνωση των αεροχώρων του πνεύμονα  $> 50\%$ , εντός 24-48 ωρών) και 5% των περιπτώσεων ήταν κρίσιμες (δηλαδή αναπνευστική δυσχέρεια, σηπτικό σοκ ή πολυοργανική ανεπάρκεια). Αργότερα, σε πιο εκτεταμένη μετα-ανάλυση, διαπιστώθηκε υψηλότερο ποσοστό σοβαρής νόσου (20,3%). Το ποσοστό της θνητότητας της ασθένειας ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή, τα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού, καθώς και τις δυνατότητες φροντίδας υγείας. Για παράδειγμα, στην Ιταλία εκτιμάται ότι το συνολικά υψηλότερο ποσοστό της θνητότητας της ασθένειας, 7,2%, μπορεί να οφείλεται και στο υψηλότερο ποσοστό ατόμων σε προχωρημένη ηλικία σε σύγκριση με την Κίνα. Σύμφωνα με δεδομένα σε παγκόσμια κλίμακα, εκτιμάται ότι το ποσοστό της θνητότητας της νόσου COVID-19 (βασίζεται μόνο σε επιβεβαιωμένες περιπτώσεις) είναι περίπου 6,9%. Η εξέλιξη της ασθένειας προς το σύνδρομο της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) εμφανίζεται συνήθως σε ηλικιωμένους ασθενείς (άνω των 63 ετών), συχνά με υποκείμενες νόσους, όπως καρδιοπάθεια, υπέρταση ή διαβήτη. Ο αυξημένος κίνδυνος θνητότητας συ-



σχετίστηκε με την προχωρημένη ηλικία, τη σήψη, τη μειωμένη πηκτικότητα του αίματος. Σε άτομα μικρότερης ηλικίας, αλλά άνω των 60 ετών, ο αυξημένος δείκτης μάζας (άνω των 30) συσχετίστηκε με αυξημένη σοβαρότητα της νόσου και την εξέλιξη της νόσου σε σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας. Άλλα συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων των νευρολογικών συμπτωμάτων, έχουν επίσης αναφερθεί σε μικρότερα ποσοστά ασθενών. Επιπλέον, η νόσος αφήνει το αποτύπωμα της, ως φλεγμονή του μυοκαρδίου και αύξηση των ειδικών καρδιακών ενζύμων, κλινικά ευρήματα σχετιζόμενα με τη μυοκαρδιοπάθεια από stress ή αλλιώς με το «σύνδρομο της ραγισμένης καρδιάς». Ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών με COVID-19 δεν αναρρώνουν πλήρως σε λίγες εβδομάδες και παρουσιάζουν συμπτώματα χρόνιας κόπωσης (COVID long-haulers)<sup>12</sup>.

Η βαρύτητα των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 φαίνεται να επηρεάζεται από την ηλικία και το φύλο<sup>13</sup>. Τα βρέφη και τα παιδιά συνήθως διατρέχουν υψηλό κίνδυνο από λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος από ιούς, όπως ο αναπνευστικός συγκυτιακός ιός (RSV) και ο ιός της γρίπης. Αντίθετα, οι παιδιατρικοί ασθενείς με COVID-19 εμφανίζουν σχετικά ηπιότερα συμπτώματα, γενικά, σε σύγκριση με τους ηλικιωμένους ασθενείς. Ο λόγος για αυτή τη διαφορά, μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, παραμένει ασαφής. Πρόσφατη έκθεση πρότεινε τη συσχέτιση μεταξύ της σοβαρότητας της νόσου COVID-19 και της ποσότητας των ιικών φορτίων, και πιθανώς τα παιδιά μπορεί να έχουν μικρότερα φορτία του ιού ακόμα και αν μολυνθούν από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2. Υπό αυτήν την προοπτική, διατυπώνονται δύο υποθέσεις<sup>14</sup>: η πρώτη υπόθεση αφορά στο ποσοστό έκφρασης του υποδοχέα ACE2, που διαφέρει μεταξύ ενηλίκων και παιδιών. Είναι γνωστό ότι οι υποδοχείς ACE2 εκφράζονται περισσότερο σε καλώς διαφοροποιημένα επιθηλιακά κύτταρα. Επιπλέον, το φύλο μπορεί επίσης να επηρεάσει την έκφραση του υποδοχέα ACE2. Το γονίδιο ACE2 βρίσκεται στο X χρωμόσωμα. Τα ποσοστά έκφρασης ACE2 είναι υψηλότερα στους άνδρες από ό, τι στις γυναίκες. Αυτό μπορεί να είναι υπεύθυνο για τη διαφορά στη σοβαρότητα και τη θνητότητα μεταξύ ανδρών και γυναικών τόσο στον ενήλικο, όσο και στον

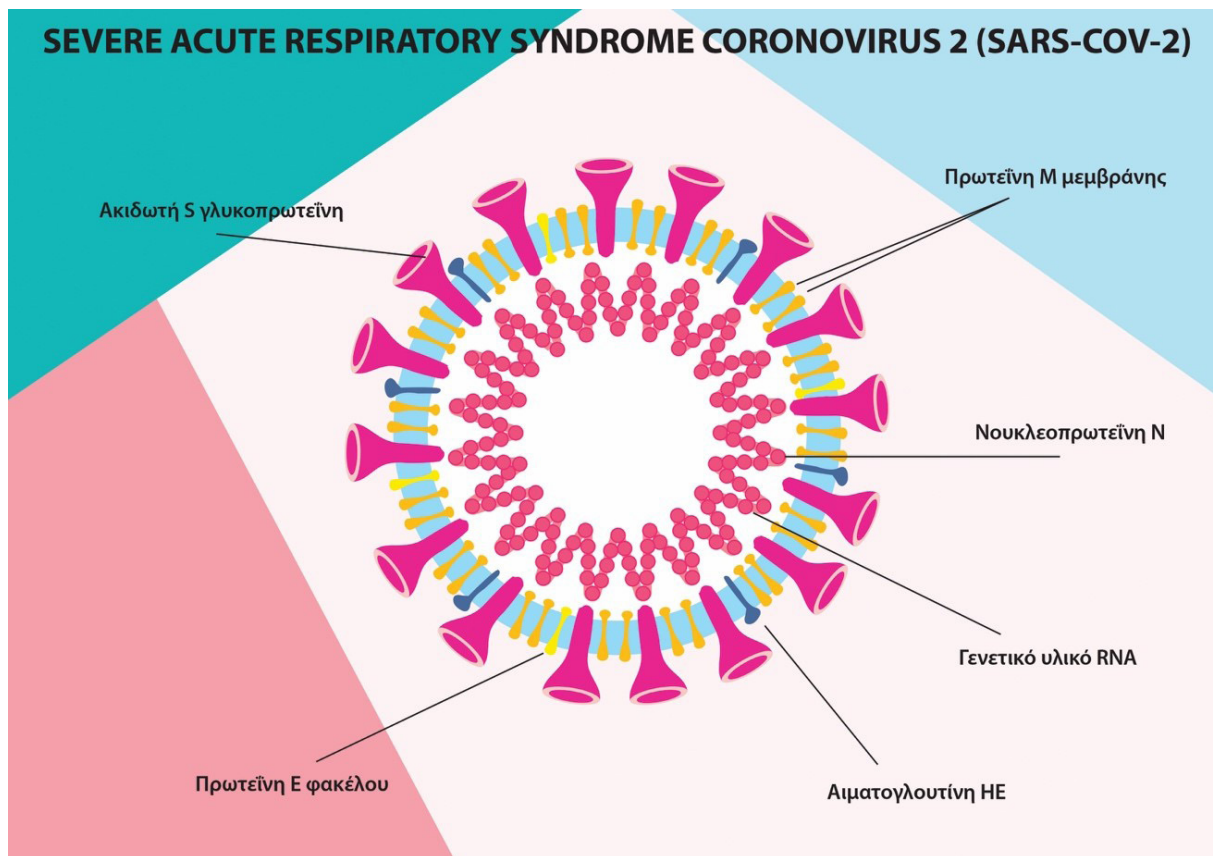
παιδιατρικό πληθυσμό. Η δεύτερη υπόθεση αφορά στην ποιοτικά διαφορετική ανοσοπάντηση στον ιό SARS-CoV-2 των παιδιών σε σχέση με τους ενήλικες. Με τη γήρανση, η συνεχής αντιγονική διέγερση και η εμπλοκή του θύμου αδένου οδηγούν σε μεταβολή της κατανομής των υποσυνόλων των T-κυττάρων, κατά τη διαφοροποίηση και ωρίμανσή τους. Επιπλέον, στατιστικά ανακαλύπτονται και άλλοι παράγοντες, που επηρεάζουν τη βαρύτητα της εκδήλωσης των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19. Οι περισσότεροι από αυτούς τους παράγοντες σχετίζονται με τη ρύθμιση της έκφρασης του υποδοχέα ACE2. Εκτός του φύλου και της ηλικίας, που προαναφέρθηκαν, η έναλος δίαιτα αυξάνει την έκφραση του υποδοχέα ACE2, ενώ, αντίθετα, η νικοτίνη την μειώνει<sup>15</sup>.

Επιπλέον, η βαρύτητα των συμπτωμάτων της νόσου COVID-19 φαίνεται να επηρεάζεται και από γενετικούς παράγοντες. Ερευνητές της εξελεγκτικής ανθρωπολογίας από το Max Planck Institute υποδεικνύουν ότι γονίδια ηλικίας 60.000 ετών, που κληρονόμησε ο σύγχρονος άνθρωπος από τον άνθρωπο του Νεάντερταλ της Νότιας Ευρώπης, πολλαπλασιάζουν τον κίνδυνο κατά 3 φορές για ένα ασθενή με COVID-19 να δεχθεί μηχανική αναπνευστική υποστήριξη<sup>16</sup>. Μία περιοχή στο χρωμόσωμα Νο 3, που περιλαμβάνει 50.000 ζεύγη βάσεων, επηρεάζει εάν ένα άτομο θα αρρωστήσει σοβαρά ή όχι.

### 3. Δομή του κορωνοϊού SARS-CoV-2

Ο ιός SARS-CoV-2 αποτελείται από τέσσερις κύριες δομικές πρωτεΐνες, την ακιδωτή γλυκοπρωτεΐνη (S), τη γλυκοπρωτεΐνη μεμβράνης (M), την πρωτεΐνη του νουκλεοκαψιδίου (N) και την πρωτεΐνη του φακέλου (E), καθώς και από άλλες πρωτεΐνες, οι οποίες συνεισφέρουν τη δράση του<sup>17</sup> (σχήμα 2).

Η ακιδωτή γλυκοπρωτεΐνη S είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη με μοριακό βάρος περίπου 150 kDa, η οποία βρίσκεται στο εξωτερικό τμήμα του ιού. Η πρωτεΐνη S σχηματίζει ομοτριμερή, που προεξέχουν από την ιική επιφάνεια και διακρίνεται σε δύο περιοχές, την S1, που είναι υπεύθυνη για την αναγνώριση του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης 2 (ACE2), το οποίο είναι ταυτόχρονα και υποδοχέας του κυττάρου ξενιστή, και στην περιοχή S2, η οποία



**Σχήμα 2:** Δομή του ιού SARS-CoV-2.

βοηθά στη σύντηξη του ιού με την κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή.

Το νουκλεοκαψίδιο ή αλλιώς πρωτεΐνη N αποτελεί το κύριο δομικό συστατικό του ιού που συνδέεται δομικά με το γενετικό υλικό του ιού. Επειδή η πρωτεΐνη συνδέεται με το RNA, η πρωτεΐνη εμπλέκεται σε διαδικασίες, οι οποίες σχετίζονται με το ιικό γονιδίωμα, τον ιικό κύκλο αναπαραγωγής, καθώς και την κυτταρική απόκριση των κυττάρων ξενιστών στην ιογενή λοίμωξη.

Άλλο δομικό συστατικό του ιού είναι η μεμβράνη ή η πρωτεΐνη M, η οποία έχει ρόλο στον προσδιορισμό του σχήματος του περιβλήματος του ιού. Αυτή η πρωτεΐνη μπορεί να συνδεθεί με όλες τις άλλες δομικές πρωτεΐνες. Η σύνδεση με τη M πρωτεΐνη βοηθά στη σταθεροποίηση των νουκλεοκαψιδίων ή N-πρωτεϊνών και προωθεί την ολοκλήρωση της ιικής συ-

ναρμολόγησης με τη σταθεροποίηση του συμπλέγματος N-πρωτεΐνης-RNA, στο εσωτερικό του ιού. Η πρωτεΐνη φακέλου ή πρωτεΐνη E είναι η μικρότερη πρωτεΐνη στη δομή του SARS-CoV και συμμετέχει στην παραγωγή και την ωρίμανση του ιού.

Το γενετικό υλικό του ιού είναι μονόκλωνο (+) RNA, RNA με «θετική κατεύθυνση», δηλαδή λειτουργεί ως αγγελιαφόρο m-RNA και αποτελείται από περίπου 30 kb. Μέχρι στιγμής έχουν αναγνωριστεί γονίδια που κωδικοποιούν 29 πρωτεΐνες, με δομικό και λειτουργικό ρόλο. Στον **πίνακα 1** αναφέρονται συνοπτικά οι πρωτεΐνες με λειτουργικό ρόλο<sup>18</sup>.

Το 5' άκρο του γονιδιώματος κωδικοποιεί μία πολυπρωτεΐνη, η οποία στη συνέχεια διασπάται, από πρωτεολυτικά ένζυμα, προς 16 πρωτεΐνες, nsr1 έως nsr16, οι οποίες δεν έχουν δομικό ρόλο, αλλά λειτουργικό και σχηματίζουν το σύμπλοκο αντιγραφής / με-

**Table 1: Λειτουργικές πρωτεΐνες του ιού SARS-CoV-2**

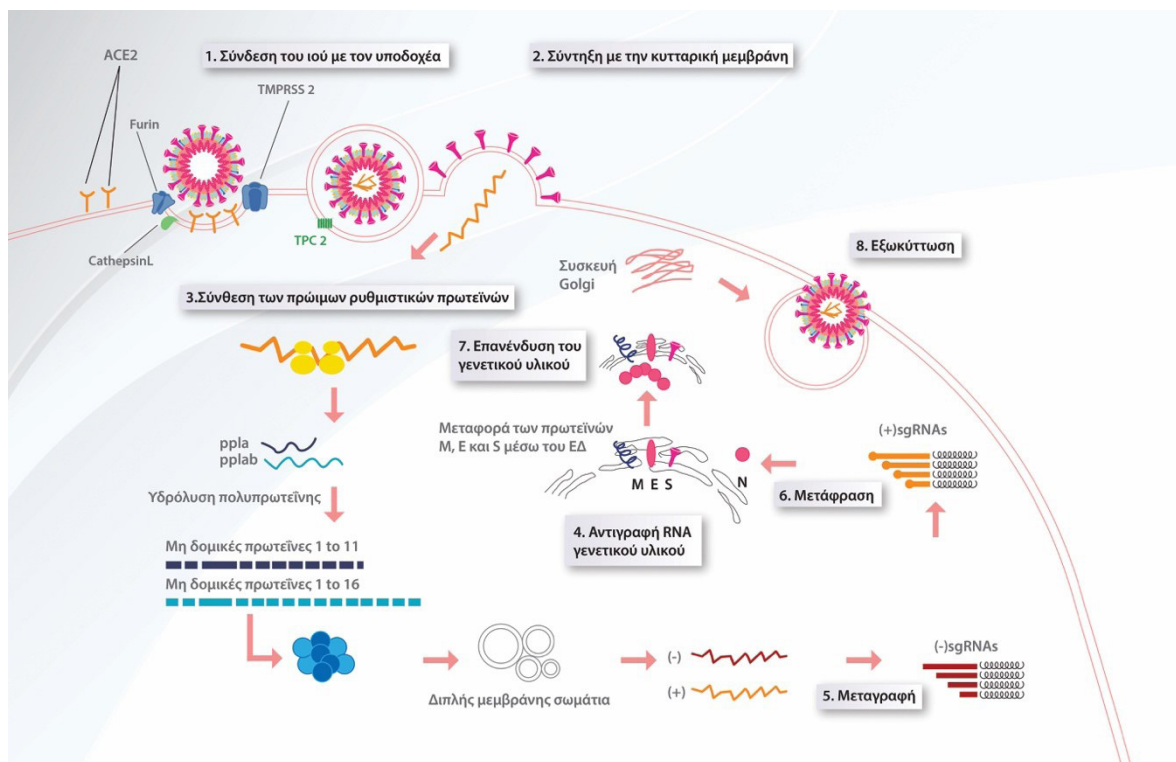
| Πρωτεΐνες       | Λειτουργία                                                                                                       |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| nsp 1 & 3       | Αναστολή της σηματοδότησης IFN και της ανοσοαπάντησης του ξενιστή<br>Αναστολή της μετάφρασης του RNA του ξενιστή |
| nsp 2           | Σύνδεση με ανασταλτικές πρωτεΐνες                                                                                |
| nsp 3 & 5       | Προώθηση της έκφρασης των κυτοκινών και υδρόλυση της ιικής πολυπρωτεΐνης                                         |
| nsp 4 & 6       | Συμμετοχή στο σχηματισμό των DMVs (σωμάτων διπλομεμβράνης)                                                       |
| nsp 7/8 complex | Πολυσχιδής πολυμεράση ικανή για de novo σύνθεση και επιμήκυνση της αλληλουχίας του εκκινητή                      |
| nsp 9           | Φωσφατάση του RNA                                                                                                |
| nsp 10, 16 & 14 | Επαγωγή της λειτουργίας των ενζύμων της εξωριβονουκλεάσης (ExoN) και της 2-O-μεθυλοτρανσφεράσης (2-O-MT)         |
| nsp 12          | RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση                                                                                    |
| nsp 13          | Ελίκηση του RNA                                                                                                  |
| nsp 14          | Επιδιόρθωση του ιικού γονιδιώματος                                                                               |
| nsp 15          | Ενδονουκλεάση και πρωτεάση τύπου χυμοθρυψίνης                                                                    |
| nsp 16          | Αποφυγή της ελίκησης MD5 και της ρύθμισης της ανοσοαπάντησης                                                     |

ταγραφής. Το βασικό συστατικό αυτού του συμπλόκου είναι η καταλυτική υπομονάδα (nsp12), μίας RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp). Η nsp12 έχει μικρή δραστηριότητα και οι λειτουργίες της απαιτούν βοηθητικούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων των nsp7/8, οι οποίοι ενισχύουν την παραγωγή της RdRp. Το σύμπλοκο αντιγραφής περιλαμβάνει και άλλα ένζυμα, που είναι απαραίτητα για το μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων, π.χ. ενδονουκλεάσες και εξωνουκλεάσες. Ωστόσο, παρά την παρουσία του επιδιορθωτικού μηχανισμού του ιικού γονιδιώματος (nsp 14), γονιδιακή μετάλλαξη οδήγησε στην αντικατάσταση του ασπαρτικού οξέος στην υπ' αρ. 614 αμινοξική θέση της ακιδωτής S πρωτεΐνης από τη γλυκίνη (D614G). Το αποτέλεσμα αυτής της μετάλλαξης είναι ότι το μεταλλαγμένο στέλεχος του κορωνοϊού (D614G variant) να αναπαράγεται με περίπου δεκαπλάσια ταχύτητα και είναι πιο μεταδοτικό σε σχέση με το αρχικό στέλεχος που πυροδότησε την πανδημία, χωρίς όμως να προκαλεί βαρύτερη λοίμωξη<sup>19</sup>.

#### 4. Αναπαραγωγικός κύκλος ζωής του ιού SARS-CoV-2 σε κύτταρα ξενιστές

Ο αναπαραγωγικός κύκλος ζωής του SARS-CoV-2 διακρίνεται σε 5 στάδια: την πρόσδεση, την προσρόφηση, τη βιοσύνθεση, τη συναρμολόγηση / ωρίμανση και την απελευθέρωση/εξάπλωση, όπως απεικονίζονται στο **σχήμα 3**. Ο ιός μολύνει κυρίως το αναπνευστικό σύστημα (ρινικά επιθηλιακά κύτταρα, πνευμονοκύτταρα και κυψελιδικά μακροφάγα), καθώς και το γαστρεντερικό σωλήνα (εντεροκύτταρα) του ανθρώπου<sup>20</sup>.

Η επιτυχής είσοδος του ιού στα κύτταρα του ξενιστή λαμβάνει χώρα με την επιλεκτική προσκόλληση της γλυκοπρωτεΐνης S του καψομεριδίου στον υποδοχέα ACE2, του κυτταρικού ενζύμου της μετατροπής της αγγειοτασίνης 2. Αυτή η προσκόλληση εμφανίζεται στον τομέα δέσμευσης της πρωτεΐνης S και περιλαμβάνει τα 331 έως 524 αμινοξέα, τα οποία δεσμεύονται έντονα με τον ανθρώπινο υποδοχέα ACE2. Για



**Σχήμα 3:** Τα στάδια αναπαραγωγής του ιού SARS-CoV-2.

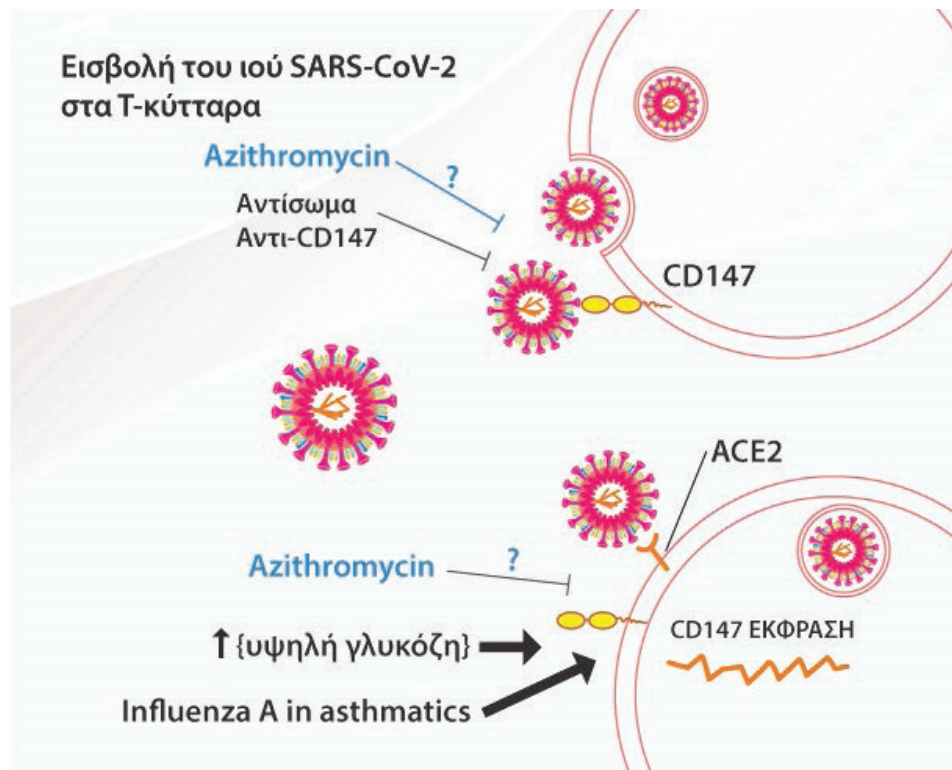
να πραγματοποιηθεί η σύντηξη του βίριου με το κύτταρο ξενιστή, πρέπει να ενεργοποιηθεί η ακιδωτή S πρωτεΐνη. Η ενεργοποίηση αυτή είναι μία πολύπλοκη διαδικασία, που περιλαμβάνει την πρωτεολυτική υδρόλυση σε δύο σημεία, τις θέσεις S1/S2 και S2', κατά την οποία διακρίνεται ο διαφορετικός ρόλος των δύο υπομονάδων, S1 και S2, της ακιδωτής S πρωτεΐνης<sup>21</sup>. Η υπομονάδα S1 αποτελεί το σημείο σύνδεσης με τον υποδοχέα του ξενιστή, ενώ η υπομονάδα S2 αγκιστρώνεται στη μεμβράνη του ξενιστή κατά τη σύντηξη. Η υδρόλυση στη θέση S2' γίνεται από τη διαμεμβρανική πρωτεάση τύπου σερίνης II (TMPRSS2)<sup>22</sup> που υπάρχει στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή. Η υδρόλυση στη θέση S1/S2 γίνεται από το ένζυμο της φουρίνης και ενεργοποιεί διαμορφωτικές αλλαγές, οι οποίες επιτρέπουν την έκθεση της θέσης S2' προς τα πρωτεολυτικά ένζυμα του ξενιστή κατά την είσοδο του ιού στο κύτταρο του ξενιστή. Κατά την υδρολυτική δράση της φουρίνης αποκαλύπτεται ένα καρβοξυτελικό άκρο (Arg-Arg-Ala-Arg-COOH) στην υπομονάδα S1, που συνδέεται με το διαμεμβρανικό υποδοχέα

του ξενιστή, τη νευροφυλίνη-1 (neurophilin-1/NRP1)<sup>23,24</sup>. Η NRP1 βρίσκεται σε αφθονία στον ανθρώπινο οργανισμό και ίσως να αποτελεί τον παράγοντα που διαφοροποιεί τη μολυσματικότητα και τη μεταδοτικότητα του SARS-CoV-2 σε σχέση με τους υπόλοιπους κορωνοϊούς. Στη συνέχεια, ο ιός μεταφέρεται / ενδοκυττώνεται στο ενδόσωμα, όπου οι όξινες πρωτεάσες του ενδοσώματος διασπούν την πρωτεΐνη S. Η cathepsin L είναι μία σημαντική λυσοσωμική πρωτεάση, για την ενδοκύττωση του ιού, γιατί βρέθηκε ότι η αναστολή της μειώνει την είσοδο του ιού κατά 76%. Επιπλέον, ο ιός αναστέλλει το διάλυο 2 πόρων (TPC2) που επηρεάζει την ωρίμανση των ενδοσωματίων κατά την ενδοκύττωση του SARS-CoV-2. Το ιικό γονιδίωμα αποδεσμεύεται και μεταφράζεται προς τις ιικές πολυπρωτεΐνες PP1a και PP1ab, οι οποίες διασπώνται σε λειτουργικές πρωτεΐνες από ιικές πρωτεάσες. Ο θετικής κατεύθυνσης κλώνος του ιικού RNA μεταγράφεται προς τον αρνητικής κατεύθυνσης κλώνο RNA, που επιτρέπει τη σύνθεση νέων γονιδιωματικών RNA, καθώς επίσης και προς τους αλληλεπικαλυπτόμενους





στον υποδοχέα ACE2. Μία καθορισμένη περιοχή δέσμευσης του υποδοχέα, στην προαναφερθείσα ακιδωτή πρωτεΐνη, αναγνωρίζει ειδικά τον υποδοχέα ACE2 στον ξενιστή του ιού. Και τα δύο στελέχη κορωνοϊών, SARS-CoV και SARS-CoV-2, μοιράζονται σε υψηλό ποσοστό την αμινοξική αλληλουχία της S πρωτεΐνης. Αυτή η ομοιότητα της αναγνώρισης των υποδοχέων μπορεί να αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα, που σχετίζεται με τις μεταλλάξεις των κορωνοϊών και τη μόλυνση νέων διασταυρούμενων ειδών ξενιστών από τους κορωνοϊούς. Το ένζυμο ACE2 είναι μία μεταλλοπρωτεΐνωση ψευδαργύρου και αποτελεί μέρος του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης (RAS), που ρυθμίζει την καρδιαγγειακή ομοιόσταση και την αρτηριακή πίεση, μέσω της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών<sup>25,26</sup>. Επιπλέον, υδρολύει την καρβοξυτελική λευκίνη από την αγγειοτασίνη I (δεκαπεπτίδιο), για να παράγει το εννιαπεπτίδιο αγγειοτασίνη-(1-9). Το ένζυμο ACE2 μετατρέπει, επίσης, την αγγειοτασίνη II (οκταπεπτίδιο) προς αγγειοτασίνη-(1-7), η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή και μειώνει το οξειδωτικό stress (σχήμα 4). Όσον αφο-

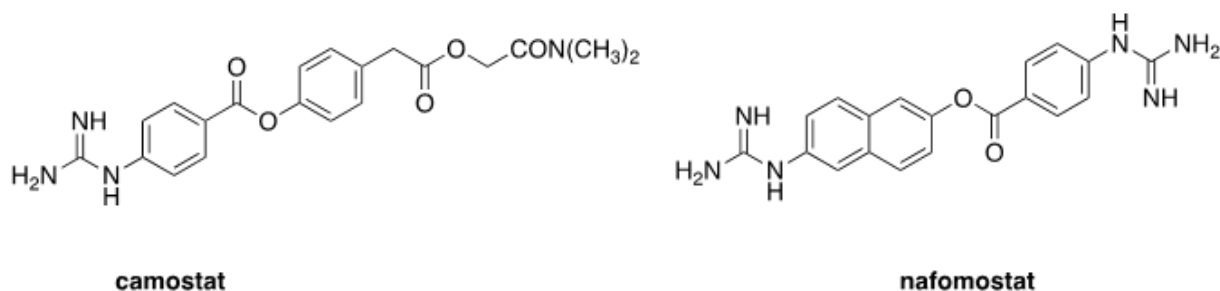


**Σχήμα 5:** Σχηματική απεικόνιση της εμπλοκής του υποδοχέα CD147 στον κύκλο ζωής του ιού SARS-CoV-2

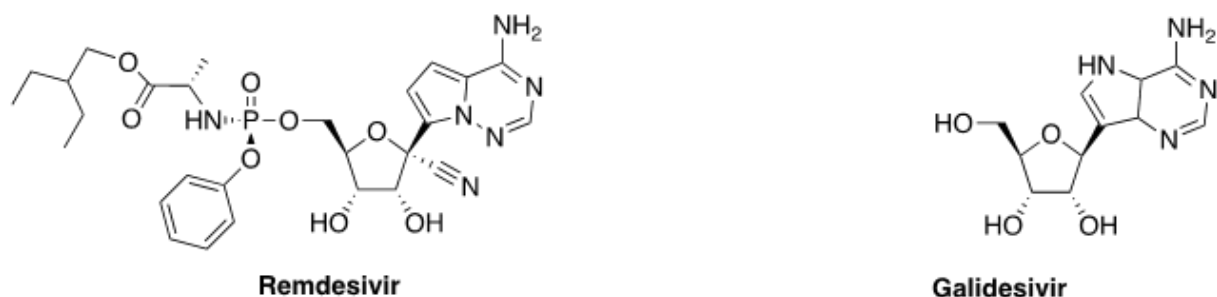
ρά στις λοιμώξεις του κορωνοϊού, ο ACE2 υποδοχέας μεσολαβεί στην είσοδο κυττάρων ξενιστών με S πρωτεΐνη. Ο σχηματισμός του συμπλέγματος της S πρωτεΐνης-ACE2 έχει επίσης αναφερθεί ότι οδηγεί σε μερική μείωση ή ολική απώλεια της ενζυμικής λειτουργίας του ACE2 στα κύτταρα του ξενιστή, αυξάνοντας τη συγκέντρωση της προ-φλεγμονώδους αγγειοτασίνης II. Τα υψηλά επίπεδα της αγγειοτασίνης II στον πνεύμονα ευνοούν την απόπτωση, ξεκινώντας τη φλεγμονώδη διαδικασία με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών, οι οποίες μπορεί τελικά να οδηγήσουν σε σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Οι υποδοχείς ACE2 υπάρχουν σε πολλούς κυτταρικούς τύπους και ιστούς, κυρίως στους πνεύμονες, την καρδιά, το ενδοθήλιο των αιμοφόρων αγγείων, τους νεφρούς, το ήπαρ και το γαστρεντερικό σωλήνα. Γι' αυτό, άλλωστε, εντοπίζονται σε αυτά τα όργανα και οι βλάβες από τη λοίμωξη COVID-19.

Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις για τη νόσο COVID-19 που αφορούν στο ένζυμο ACE2 περιλαμβάνουν: i) την παραγωγή εμβολίου με βάση την ακιδωτή S πρωτεΐνη, ii) την αναστολή της σύντηξης ιού και κυττάρου ξενιστή, μέσω της διαμεμβρανικής πρωτεάσης της σερίνης 2 (TMPRSS2) και iii) τον αποκλεισμό του υποδοχέα ACE2.

Οι αναστολείς του υποδοχέα της αγγειοτασίνης II τύπου 1 (angiotensin II receptor blockers-ARBs) προστατεύουν άμεσα την ακεραιότητα του ενδοθηλιακού φραγμού των πνευμόνων και έμμεσα ρυθμίζουν τους υποδοχείς ACE2, μειώνοντας τη φλεγμονή, την ίνωση των οργάνων και τον τραυματισμό του ενδοθηλίου<sup>27</sup>. Για αυτό το λόγο, αρχικά, διατυπώθηκε ο φόβος ότι η αυξορύθμιση των υποδοχέων ACE2 από τη χρήση των αναστολέων, αυξάνει τον κίνδυνο της μόλυνσης από τον νέο κορωνοϊό. Ωστόσο, κλινικές μελέτες έδειξαν ότι νοσηλευμένοι ασθενείς με COVID-19 και υπέρταση, όταν έλαβαν θεραπεία με αναστο-



**Σχήμα 6:** Δομές των ενώσεων camostat και nafomostat.



**Σχήμα 7:** Δομές των ενώσεων remdesivir και galidesivir.

λείς ACE ή ARB, εμφάνισαν χαμηλότερο κίνδυνο θνητότητας, ανεξαρτήτως των αιτιών. Ενδεικτικά, αναφέρεται η ένωση losartan και η telmisartan με τα καλύτερα αποτελέσματα σε αυτές τις μελέτες.

Αξίζει, επίσης, να αναφερθεί ότι οι στατίνες ρυθμίζουν τους υποδοχείς ACE2, μέσω επιγενετικών τροποποιήσεων και παρεμβαίνουν στη σηματοδότησή του<sup>28</sup>. Ως γνωστόν, οι στατίνες μειώνουν τη χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, τη συνακόλουθη φλεγμονή και το οξειδωτικό stress, που προκαλείται, και συμβάλλουν ευεργετικά στις καρδιαγγειακές παθήσεις. Επιπλέον, οι στατίνες παρεμβαίνουν στην ανοσοαπάντηση σε διαφορετικά επίπεδα και την παραγωγή κυτοκινών. Οι στατίνες αποκαθιστούν, επίσης, την ισορροπία των οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων στα αγγεία μειώνοντας τις δραστικές μορφές οξυγόνου και βελτιώνοντας τη βιοδιαθεσιμότητα του οξειδίου του αζώτου, και αντίστοιχα τη λειτουργία και την ακεραιότητα του ενδοθηλίου. Οι στατίνες, παράλληλα με τους αναστολείς ARB, έχουν αναφερθεί ότι είναι αποτελεσματικές στη βελτίωση της απόκρισης

του ξενιστή και στην πρόληψη της βλάβης του ενδοθηλίου σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με τον ιό του Ebola, κατά τη διάρκεια της πρόσφατης σχετικής επιδημίας στη Δυτική Αφρική. Αυτά τα ευρήματα προτείνουν μία πολλαπλά υποσχόμενη ερευνητική κατεύθυνση κατά του ιού SARS-CoV-2.

### 5.2 Ο Υποδοχέας CD147 ή Basigin (BSG)

Ένας ακόμα υποδοχέας που εξετάζεται, ως προς το ρόλο του στη μόλυνση των κυττάρων του ξενιστή, από τον κορωνοϊό SARS-CoV-2, είναι ο CD147, που ονομάζεται επίσης Basigin (BSG) ή εξωκυτταρικός επαγωγέας της μεταλλοπρωτεΐνωσης (EMMPRIN). Ο υποδοχέας CD147 διευκολύνει την είσοδο του παράσιτου της ελονοσίας *Plasmodium falciparum* στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Ο υποδοχέας CD147 είναι μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία επίσης συνδέεται με την ακιδωτή S πρωτεΐνη του SARS-CoV-2. Έχει διαπιστωθεί ότι οι ασθενείς COVID-19 με διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν υψηλότερο ποσοστό θνητότητας

σε σχέση με ασθενείς COVID-19 με καλά ελεγχόμενη γλυκόζη στο αίμα (11% έναντι 1,1%). Η υψηλή συγκέντρωση της γλυκόζης στο αίμα ρυθμίζει την έκφραση του υποδοχέα CD147 στα ανοσοκύτταρα. Επομένως, ο μηχανισμός που συσχετίζει τον υποδοχέα CD147 με τον κορωνοϊό SARS-CoV-2 αφορά στην υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα και την επαγόμενη έκφραση του CD147 στα T-κύτταρα. Σε *in vitro* μελέτη έχει βρεθεί ότι τα ανθρώπινα αντισώματα, mepolizumab, αντι-CD147, αναστέλλουν την είσοδο του ιού στα κύτταρα του ξενιστή. Επιπλέον, οι μακρολίδες, και κυρίως η αζιθρομυκίνη, μειώνει την έκφραση του υποδοχέα CD147 και αναστέλλουν την εισβολή του ιού στα κύτταρα του ξενιστή<sup>29</sup> (σχήμα 5).

### 5.3 Η πρωτεάση τύπου σερίνης II (TMPRSS2)

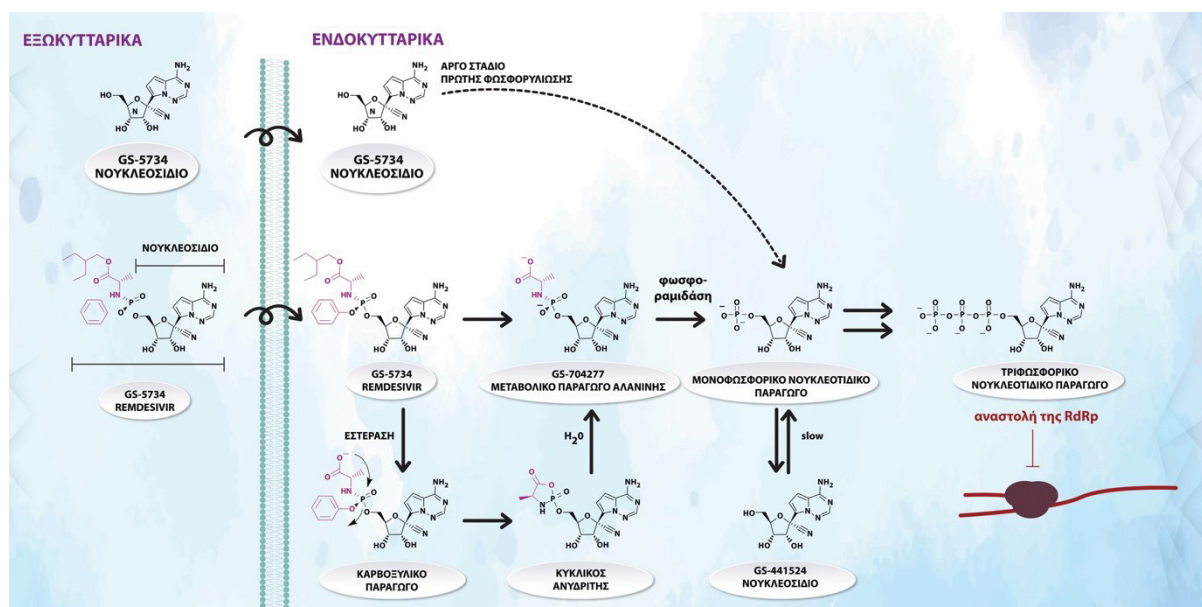
Από τα πεπτιδομιμητικά φάρμακα που έχουν προταθεί για την αντιμετώπιση του νέου κορωνοϊού, οι πεπτιδομιμητικοί αναστολείς τύπου σερίνης II προηγούνται στις κλινικές μελέτες με ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Οι αναστολείς της πρωτεάσης TMPRSS2 αναστέλλουν τη δράση του ενζύμου, όπως αναλύθηκε προηγουμένως, και αποτρέπουν τη σύντηξη του περιβλήματος του ιού SARS-CoV-2 με την επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, το πρώτο βήμα της ιικής μόλυνσης. Ενδεικτικά αναφέρεται ένα εγκεκριμένο φάρμακο, το camostat mesylate, (Foipar) ο μεθανοσουλφονικός βενζοϊκός εστέρας της 4-[2-[2-(διμεθυλαμινο)-2-οξοαιθοξυ]-2-οξοαιθυλο}φαινυλο-4-γουανιδίνης. Το camostat είναι αναστολέας της πρωτεάσης τύπου σερίνης II, TMPRSS2. Τα ένζυμα της πρωτεάσης της σερίνης έχουν ποικίλες λειτουργίες στον ανθρώπινο οργανισμό, και έτσι το camostat έχει ευρύ φάσμα χρήσεων. Το μεθυλικό άλας του camostat εγκρίθηκε στην Ιαπωνία το 1985, ως σκεύασμα δισκίου (Foipar) για τη θεραπεία της οισοφαγίτιδας, από παλινδρόμηση, καθώς και της χρόνιας παγκρεατίτιδας. Μια μελέτη το 2012 έδειξε ότι η αναστολή του TMPRSS2 από το camostat αναστέλλει μερικώς τη μόλυνση από τον SARS-CoV και τον ανθρώπινο κορωνοϊό NL63 σε κύτταρα HeL<sup>30-32</sup>. Η ένωση nafamostat είναι επίσης πεπτιδομιμητικός αναστολέας τύπου σερίνης II, της οποίας η χρήση

αναθεωρήθηκε και χρησιμοποιήθηκε κατά του ιού MERS-CoV, το 2016<sup>33</sup>. Στην ίδια κατηγορία πεπτιδομιμητικών αναστολέων TMPRSS2 ανήκει η ένωση aprotinin, η οποία έχει εγκριθεί στη Ρωσία, ως αερόλυμα για τη θεραπεία της γρίπης. Επειδή οι θεραπευτικές συγκεντρώσεις της aprotinin αναστέλλουν τον αναδιπλασιασμό του SARS-CoV-2 με τον ίδιο μηχανισμό, όπως έχει αναλυθεί, θα μπορούσε το αερόλυμα aprotinin να χρησιμοποιηθεί τοπικά για την έγκαιρη αναστολή της μόλυνσης από το νέο κορωνοϊό και την πρόληψη της εξέλιξης της μόλυνσης σε νόσο COVID-19<sup>34</sup>. Ωστόσο, η αναστολή του ενζύμου TMPRSS2 θα μπορούσε να γίνει και κατά τη μεταγραφή του γονιδιώματος που κωδικοποιεί το ένζυμο, από τους αντίστοιχους παράγοντες, πχ. οιστρογόνα<sup>35</sup>.

### 5.4 Στόχευση της προφλεγμονώδους υπερκυτταροαιμίας/δευτεροπαθούς αιμοφαγοκυτταρικής λεμφοϊστοκύτωσης

Έχουν παρατηρηθεί αυξημένα ποσοστά θανάτου σε ασθενείς, λόγω της αθρόας και ανεξέλεγκτης αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό, προκαλώντας θανατηφόρο υπερκυτταροαιμία ή αλλιώς το σύνδρομο απελευθέρωσης κυτοκινών (καταιγίδα κυτοκινών) (CRS) και το σύνδρομο ενεργοποίησης μακροφάγων (MAS), που μπορεί να οδηγήσει σε πνευμονική βλάβη και πολυοργανική ανεπάρκεια. Το σύνδρομο CRS έχει παρατηρηθεί, ως ανοσοαπάντηση σε κορωνοϊούς, συμπεριλαμβανομένων των ιών SARS και MERS, με υψηλή έκφραση της ιντερλευκίνης IL-6. Αρκετές ερευνητικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι ορισμένες προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες αυξάνονται στο πλάσμα των ασθενών με COVID-19. Η IL-6 είναι μια κυτοκίνη, η οποία φαίνεται ότι αυξάνει ακόμη περισσότερο τη φλεγμονή στη νόσο COVID-19, με αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερων κυτοκινών, μακροφάγων και κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων, που αυξάνουν τη φλεγμονή των πνευμόνων. Οι θεραπευτικές αγωγές, οι οποίες μελετώνται για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19, με σοβαρή αναπνευστική δυσχέρεια και επιδείνωση συμπτωμάτων με υπερφλεγμονώδες σύνδρομο, περιλαμβάνουν μονοκλωνικά αντι-





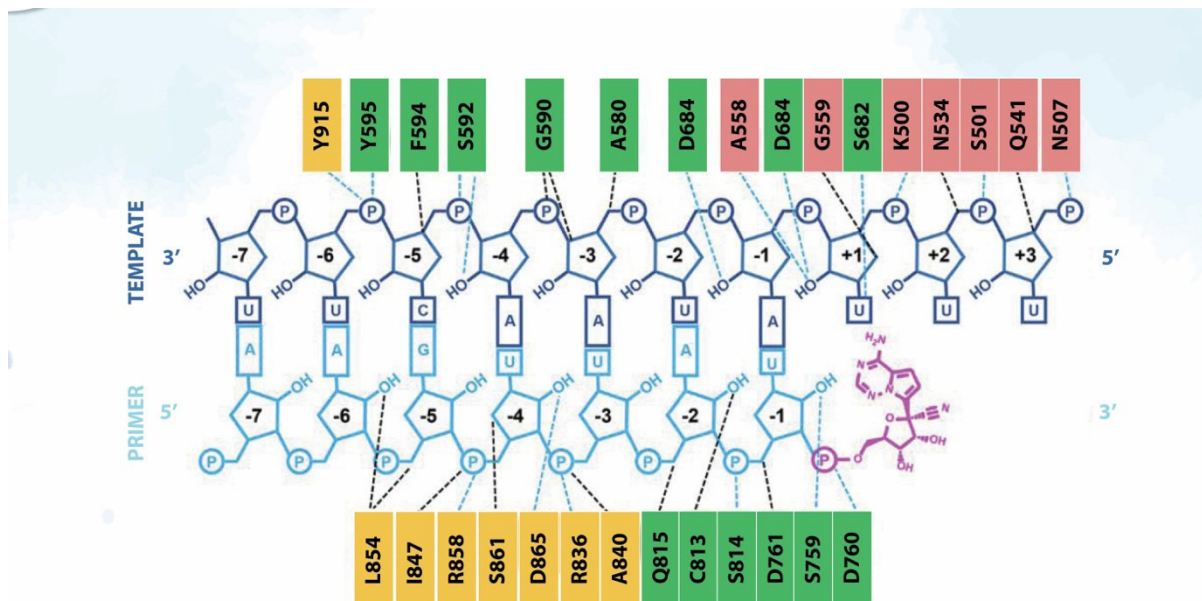
**Σχήμα 8:** Βιομετατροπή της ένωσης remdesivir. Το remdesivir (GS-5734) είναι προφάρμακο, που μεταβολίζεται εντός των κυττάρων προς μεταβολίτη της αλανίνης, ο οποίος στη συνέχεια μετατρέπεται προς το μονοφωσφορικό παράγωγο, και τελικά προς το δραστικό τριφωσφορικό νουκλεοσιδικό παράγωγο.

σώματα, όπως tocilizumab<sup>36</sup> (ανταγωνιστής IL-6), leronlimab, τους αναστολείς των κινάσων Janus, τις ιντερφερόνες λάμδα (IFNλs) και τα κορτικοστεροειδή, όπως η δεξαμεθαζόνη.

Η ένωση tocilizumab αναστέλλει την κυτοκίνη IL-6, περιορίζοντας τη φλεγμονή και προστατεύει τους ασθενείς από την καταιγίδα κυτοκινών. Η κλινική δοκιμή φάσης III EMPACTA, η οποία εξέτασε 389 ασθενείς με πνευμονία που νοσηλεύτηκαν με COVID-19, έδειξε ότι η tocilizumab μειώνει σε ποσοστό 44% την πιθανότητα διασωλήνωσης ή κατάληξης. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη διαπιστώθηκε μείωση της θνητότητας σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και μείωση του χρόνου νοσηλείας στο νοσοκομείο<sup>37,38</sup>. Ωστόσο, η χρήση της tocilizumab για τη νόσο COVID-19 είναι αμφιλεγόμενη, επειδή η κυτοκίνη IL-6 έχει προφλεγμονώδη και αντιφλεγμονώδη δράση και σχετίζεται με αντι-ιικές αντιδράσεις. Ο αποκλεισμός της IL-6 μπορεί να αυξήσει τους κινδύνους δευτερογενών λοιμώξεων των ασθενών. Η αποτυχία της μελέτης COVACTA δημιουργεί αμφιβολίες για προηγούμενες αναφορές περί μειωμένης θνητότητας ασθενών

σε μονάδες εντατικής θεραπείας, αλλά ακόμα αναμένονται τα πλήρη δεδομένα της δοκιμής<sup>39</sup>.

Οι ανασυνδυασμένες ή πεγκυλιωμένες μορφές των ιντερφερονών IFNλs μπορούν να αναστείλουν την καταιγίδα των κυτοκινών και να μειώσουν το ιικό φορτίο, αποτρέποντας τη βλάβη των πνευμονικών ιστών. Η χρήση των IFNλs αναμένεται να είναι μία πολλά υποσχόμενη θεραπεία για τη θεραπεία ασθενών με COVID-19, η οποία θα πρέπει να εξεταστεί σε κλινικές δοκιμές, καθώς μπορεί να αποτρέψει σοβαρά συμπτώματα πνευμονίας και ARDS, και συνεπώς το θάνατο<sup>40</sup>. Ωστόσο, πρέπει ακόμη να αξιολογηθεί εάν η διέγερση της παραγωγής των IFNλs ή η περίπτωση σοβαρής επιμόλυνσης, μήπως οδηγήσει σε επιπλέον αύξηση των ιντερφερονών και συνακόλουθα σε δυσμενείς επιπτώσεις στον άνθρωπο. Η δεξαμεθαζόνη, ως κορτικοστεροειδές, χρησιμοποιείται για ένα ευρύ φάσμα αντιφλεγμονώδους δράσης και ανοσοκαταστολής, τόσο τοπικά, όσο και συστηματικά, όπως σε αναπνευστικές παθήσεις. Ωστόσο, σε σχέση με τη νόσο COVID-19, βρέθηκε ότι μειώνει τους θανάτους σε ασθενείς με αναπνευστική υπο-



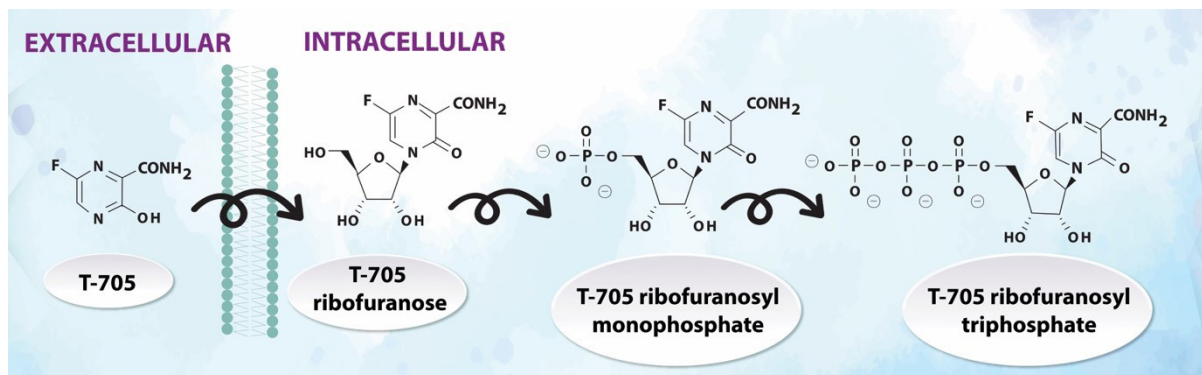
**Σχήμα 9:** Συναγωνιστική αναστολή της RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp).

στήριξη, κατά 33%, και κατά 20% σε ασθενείς που χρειάζονται μόνο οξυγόνο. Δεν διαπιστώθηκαν οφέλη για ασθενείς που δεν χρειάζονταν αναπνευστική βοήθεια<sup>41</sup>.

Στην υπέρμετρη φλεγμονώδη απόκριση του οργανισμού στον SARS-CoV-2, σε πολυσυστηματικό επίπεδο, συμπεριλαμβάνεται και το μυοκάρδιο. Η πολύχρονη εμπειρία με την κολχικίνη και τις θεραπευτικές αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, οδήγησαν μια ομάδα Ελλήνων επιστημόνων στη σκέψη να χρησιμοποιηθεί ώστε να βοηθηθεί ο οργανισμός από τις φλεγμονώδεις επιδράσεις του ιού. Η κολχικίνη, ένα ασφαλές και φθινό φάρμακο, χρησιμοποιείται σε διάφορες παθήσεις, όπως στην περικαρδίτιδα. Η πρώτη παγκοσμίως τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη που αποτύπωσε τη θεραπευτική αξία της κολχικίνης σε νοσηλευόμενους ασθενείς με κορωνοϊό, ήταν η μελέτη GRECCO-19<sup>42</sup>. Στη μελέτη αυτή, η επιβίωση στην ομάδα των ασθενών που πήρε κολχικίνη, ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από την ομάδα που πήρε την κλασική θεραπεία. Επιπλέον, η χορήγηση κολχικίνης, ως συμπληρωματική φαρμακευτική αγωγή, έδειξε σημαντική μείωση της πιθανότητας διασωλήνωσης και της θνητότητας σε νοσηλευόμενους ασθενείς<sup>42</sup>. Η κολχικίνη, με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της, δρα

αποτελεσματικά στη φλεγμονή που προκαλείται όχι μόνο στο μυοκάρδιο, αλλά συνολικά στον οργανισμό. Μια δεύτερη σημαντική μελέτη, από ιταλική ερευνητική ομάδα, επιβεβαίωσε τα θετικά αποτελέσματα της ελληνικής έρευνας. Η COLCORONA είναι μια πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή δοκιμή με 6.000 συμμετέχοντες που βρίσκεται σε εξέλιξη, η οποία στοχεύει στη διερεύνηση του κατά πόσον η βραχυπρόθεσμη θεραπεία με κολχικίνη μπορεί να μειώσει τη θνησιμότητα και τις πνευμονικές επιπλοκές σε ασθενείς με COVID-19<sup>43</sup>.

Οι εταιρείες NeuroRx και Relief Therapeutics ανακάλυψαν ότι η ένωση aniptadil οδήγησε σε ταχεία ανάρρωση από πνευμονική ανεπάρκεια σε ασθενείς με COVID-19, που νοσηλεύονταν σε σοβαρή κατάσταση<sup>44</sup>. Η ένωση aniptadil ή RLF-100 είναι ένα αγγειοδραστικό εντερικό πολυπεπτιδίο (VIP), που εντοπίζεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στους πνεύμονες και μπλοκάρει φλεγμονώδεις κυτοκίνες, αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό του ιού στα κύτταρα του πνεύμονα. Σύμφωνα με τις παραπάνω εταιρείες το 81% των ασθενών που έλαβαν aniptadil επέζησαν μετά από 60 ημέρες, σε σύγκριση με το 17% των ασθενών που δεν έλαβαν το φάρμακο<sup>44</sup>. Επιπλέον, οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με aniptadil παρουσί-



**Σχήμα 10:** Αναβολισμός της ένωσης favipiravir.

ασαν εννέα φορές αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και ανάρρωσης από αναπνευστική ανεπάρκεια. Με αυτά τα ελπιδοφόρα αποτελέσματα, ο FDA χορήγησε άδεια νέου ερευνητικού φαρμάκου (IND) για ενδοφλέβια και εισπνεόμενη χορήγηση του συνθετικού πολυπεπτιδικού aniptadil για τη θεραπεία της νόσου COVID-19 και δύο κλινικές μελέτες Φάσης IIb/III βρίσκονται σε εξέλιξη<sup>45,46</sup>.

Ιδιαίτερη σημασία, στα θεραπευτικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται κατά της νόσου COVID-19, έχει η βιταμίνη D. Η ανεπάρκεια και τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D στον ορό μπορεί να αυξήσουν την ευαισθησία σε λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος. Αντίθετα, η βιταμίνη D μπορεί να προστατεύσει από οξείες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος<sup>47</sup>, επειδή αποτρέπει την απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτοκινών και τροποποιεί την απόκριση των μακροφάγων<sup>48</sup> με αποτέλεσμα να έχει προστατευτικό ρόλο έναντι της λοίμωξης από τον ιό SARS-CoV-2<sup>49</sup>. Για αυτό το λόγο, προτείνεται για τη νοσηλεία βαρέων περιστατικών με οξεία αναπνευστική δυσχέρεια και πνευμονική ίνωση, να χορηγείται ενέσιμο σκεύασμα παρακαλσιτόλης, συνθετικού αναλόγου της βιταμίνης D, κατά αντιστοιχία με τους ασθενείς με κίρρωτικό ήπαρ<sup>50</sup>.

Επιπλέον, η τριάδα των ιντερλευκινών IL-6, IL-10 και IP-10 και η ποσοτικοποίηση τους μπορεί να λειτουργήσει ως εργαλείο για την πρόγνωση της εξέλιξης της νόσου και τη διάρκεια της νοσηλείας. Ενδεχομένως, η εξέταση των τιμών των ιντερλευκινών IL-6, IL-10 και IP-10 σε κλινικά test ρουτίνας, θα μπορού-

σε να βοηθήσει στην έγκαιρη κατηγοροποίηση των ασθενών με βάση τον κίνδυνο που διατρέχουν και να έχει μεγάλο όφελος για την παροχή υγειονομικής περίθαλψης, ιδιαίτερα υπό έκτακτες συνθήκες κατά την πανδημία<sup>51</sup>.

Αξίζει, τέλος, να αναφερθεί ότι νεότερες μελέτες δείχνουν ότι τα επίπεδα των κυτοκινών σε ασθενείς, με λοίμωξη COVID-19 σοβαρής κατάστασης, δεν είναι υψηλότερα από ό,τι ασθενείς με βακτηριακή σήψη ή καρδιακή ανακοπή<sup>52</sup>.

### 5.5 RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp)

Η ένωση remdesivir, (S)-{2-[(S)-[(2R,3S,4R,5R)-5-(4-αμινοπυρρολο[2,1-f][1,2,4]τριαζιν-7-υλο)-5-κυανο-3,4-(δωδροξυτετραϋδροφουραν-2-υλο)μεθοξυ] (φαινοξυφωσφορυν)αμινο]}προπανοϊκός 2-αιθυλοβουτυλεστέρας, αρχικά, αναπτύχθηκε από την εταιρεία Gilead Sciences κατά του ιού της ηπατίτιδας C και στη συνέχεια κατά του ιού Ebola, χωρίς ωστόσο να έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα<sup>53</sup>. Στη συνέχεια, η Gilead Sciences ανακάλυψε ότι το remdesivir είχε αντι-ική in vitro δράση έναντι πολλών ιών, αναπνευστικών ιών, παραμυξοϊών και κορωνοϊών.

Τα νουκλεοτιδικά παράγωγα δεν διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη, λόγω της υδροφιλίας τους. Επιπλέον, πρέπει να υποστούν δύο φωσφορυλιώσεις για την παραγωγή του τριφωσφορικού νουκλεοσιδικού παραγώγου (NTP), για να χρησιμοποιηθούν ως υπόστρωμα για τις ικές RNA εξαρτώμενες RNA πολυμεράσες για την αναπαραγωγή του γονιδιώματος.

Κατά αυτόν τον τρόπο, τα τριφωσφορικά νουκλεοτιδικά παράγωγα NTP μπορούν στη συνέχεια να ενσωματωθούν σε ιικό RNA από την εξαρτώμενη από ιικό RNA πολυμεράση RNA. Για να υπερκεραστεί το εμπόδιο της χαμηλής λιποφιλίας, μία εφαρμοσμένη προσέγγιση στο σχεδιασμό αντι-ιικών φαρμάκων είναι η χρήση φωσφοραμιδικών προφαρμάκων. Τα φωσφοραμιδικά προφάρμακα αποτελούνται από ένα μονοφωσφορικό νουκλεοζίτη, ο οποίος συνδέεται με ένα αρωματικό δακτύλιο και εστέρα αμινοξέος (φωσφοραμιδική ομάδα).

Το προφάρμακο μεταβολίζεται, εντός του κυττάρου, με μία ακολουθία υδρολυτικών σταδίων που ξεκινά με την υδρόλυση της εστερικής ομάδας από την αντίστοιχη εστεράση προς ένα καρβοξυλικό οξύ. Ακολουθώντας, το προφάρμακο κυκλώνει προς το αντίστοιχο κυκλικό φωσφοραμίδιο με απομάκρυνση της φαινοξυ-ομάδας. Για την ένωση remdesivir, ο ασταθής κυκλικός ανυδρίτης υδρολύεται, παρουσία νερού, προς το μεταβολίτη της αλανίνης GS-704277, του οποίου ο δεσμός P-N υδρολύεται από το ένζυμο της φωσφοραμιδάσης. Σε αυτό το τελικό βήμα αποδεσμεύεται ο μονοφωσφορικός νουκλεοζίτης, ο οποίος είναι πολύ πολικός και δεν διαχέεται εκτός της κυτταρικής μεμβράνης και παγιδεύεται εντός του κυττάρου. Η επακόλουθη φωσφορυλίωση από τις κινάσες του κυττάρου-ξενιστή μετατρέπει την ένωση στο τριφωσφορικό ανάλογο NTP, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως υπόστρωμα από την ιική πολυμεράση RdRp<sup>54</sup> (Σχήμα 8).

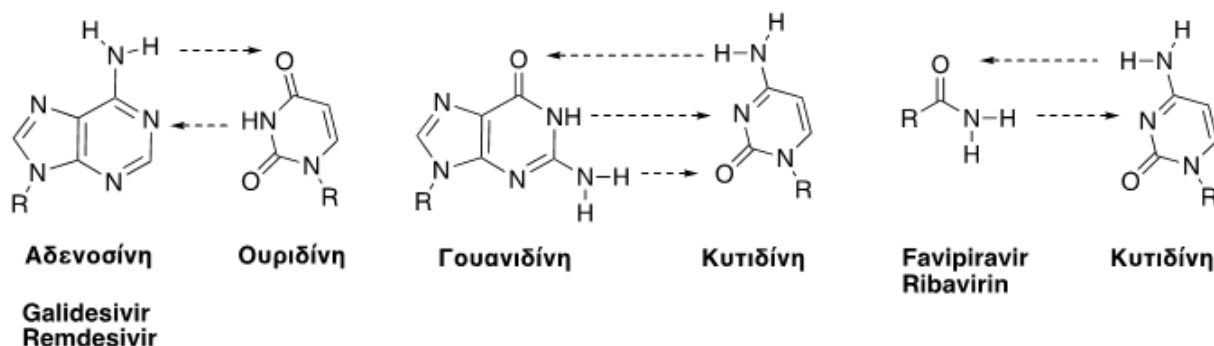
Η ένωση remdesivir, επιφέρει τον καθυστερούμενο τερματισμό της μεταγραφής παρά το γεγονός ότι διαθέτει ένα 3'-υδροξύλιο και μπορεί ακόμη να σχηματίσει έναν φωσφοδιεστερικό δεσμό με το επόμενο νουκλεοτίδιο που ενσωματώνεται. Ωστόσο, φαίνεται ότι ο υποκαταστάτης 1'-CN του remdesivir παρεμποδίζεται στερεοχημικά από το αμινοξύ της σερίνης S861 κατά την περαιτέρω επιμήκυνση της αλυσίδας του RNA (remdesivir + τρία επιπλέον νουκλεοτίδια), παραμορφώνοντας την τοποθέτηση του RNA και παρεμποδίζοντας την επιμήκυνση της αλυσίδας στην τέταρτη θέση, μετά την μονοφωσφορυλιωμένη ένωση της remdesivir. Η ένωση galidesivir είναι ένας πυρρολικός C-νουκλεοζίτης με το ίδιο άγλυκο μέρος της αδενίνης στην ένωση remdesivir, και ανα-

στέλλει, επίσης, την RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) (Σχήμα 9).

Η ένωση remdesivir χορηγείται ενδοφλεβίως (IV) με δόση εφόδου την 1η ημέρα (200 mg σε ενήλικες,) ακολουθούμενη από ημερήσια δόση συντήρησης (100 mg σε ενήλικες) έως και 10 ημέρες. Στα πρωτεύοντα πλην του ανθρώπου, με καθημερινή χορήγηση 10 mg/kg remdesivir, ο χρόνος ημίσειας ζωής στο πλάσμα του προφαρμάκου είναι  $t_{1/2} = 39$  min. Παρενέργειες του φαρμάκου είναι η αναμία, η θρομβοπενία, οι αυξημένες τρανσαμινάσες και ο ίκτερος, η αναπνευστική ανεπάρκεια.

Η κλινική μελέτη ACTT<sup>55</sup> των 1.062 ασθενών έδειξε ότι η ένωση remdesivir ήταν ανώτερη από το εικονικό φάρμακο στη συντόμευση του χρόνου ανάρρωσης σε 10 από 15 ημέρες, σε ενήλικες που νοσηλεύτηκαν με COVID-19 και είχαν ενδείξεις λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος<sup>56</sup>. Μια δεύτερη τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική κλινική δοκιμή σε ενήλικα νοσηλεύόμενα άτομα με μέτρια COVID-19 έδειξε ότι οι πιθανότητες βελτίωσης των συμπτωμάτων COVID-19 ενός ατόμου ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα της remdesivir την 11η ημέρα σε σύγκριση με εκείνους που έλαβαν μόνο το εικονικό φάρμακο<sup>57</sup>. Έτσι, τον Οκτώβριο του 2020, ο FDA ενέκρινε τη remdesivir ως την πρώτη θεραπεία κατά της λοίμωξης COVID-19 που απαιτεί νοσηλεία, για χρήση σε ενήλικες και παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας 12 ετών και άνω<sup>58</sup>. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της κλινικής μελέτης Solidarity του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), η οποία βρίσκεται σε εξέλιξη, δείχνουν ότι η remdesivir δεν επηρεάζει ουσιαστικά την πιθανότητα επιβίωσης ασθενών με κορωνοϊό ή τη διάρκεια νοσηλείας τους<sup>59,60</sup>. Πιο πρόσφατα βρέθηκε σε διπλά-τυφλή, τυχαιοποιημένη μελέτη, ότι ο συνδυασμός του αναστολέα JAK1 / JAK2, baricitinib (Olmiant) και της αντι-ιικής ένωσης remdesivir έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της νοσηλείας, κατά μία ημέρα, στο μέσο χρόνο ανάρρωσης από COVID-19, σε σχέση με το χρόνο νοσηλείας, όταν χορηγείται αποκλειστικά μόνο remdesivir<sup>61</sup>. Το baricitinib είναι φάρμακο για τη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας (RA) που έχει εγκριθεί από την Ε.Ε., ως θεραπεία δεύτερης γραμμής για μέτρια έως σοβαρή ρευ-





**Σχήμα 11:** Απεικόνιση του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών βάσεων των νουκλεοτιδίων και των τροποποιημένων νουκλεοτιδίων.

ματοειδή αρθρίτιδα σε ενήλικες.

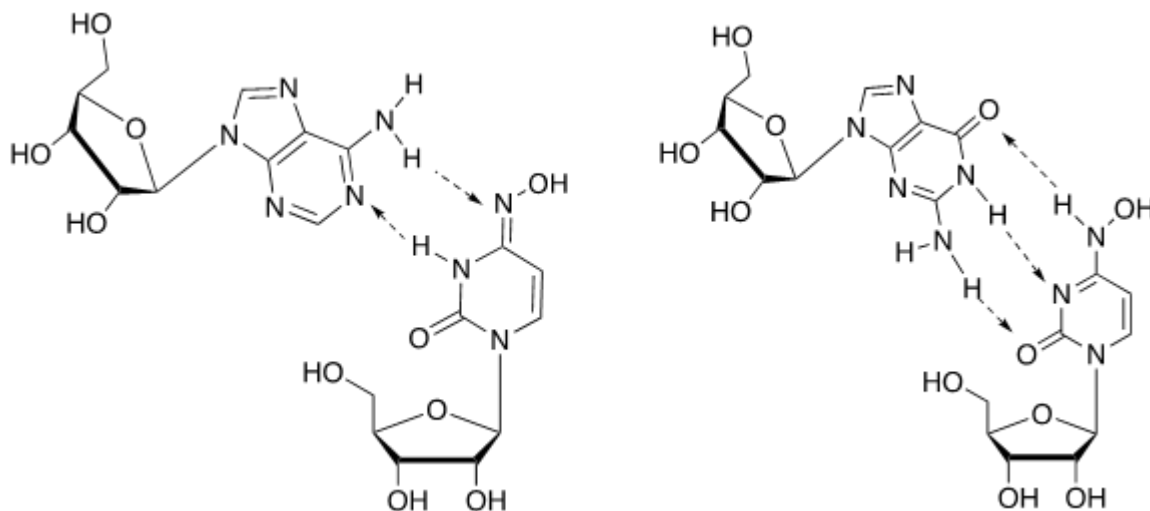
Μία άλλη ένωση αυτής της κατηγορίας των αναστολέων της RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) είναι η favipiravir (FPV, T-705), Avigan, (3-υδροξυ-6-φθορο-2-πυραζινοκαρβοξαμίδιο). Η ένωση favipiravir αναβολίζεται στα κύτταρα του ξενιστή προς τον 5'-τριφωσφορυλιωμένο 4-ριβοφουρανοσυλεστέρα και αποτελεί υπόστρωμα της RNA εξαρτώμενης RNA πολυμεράσης (RdRp), την οποία και αναστέλλει <sup>62</sup> (σχήμα 10). Η ένωση favipiravir εμφανίζει ένα ευρύ αντι-ιικό φάσμα που ανακαλύφθηκε από την Toyoma Chemical Company, Ltd. (Fujifilm Group), αποτελεί ένα τροποποιημένο ανάλογο της πυραζίνης, που είχε αρχικά εγκριθεί για αντοχή στη γρίπη στην Ιαπωνία και πλέον δοκιμάζεται σε κλινικές μελέτες με ασθενείς με COVID-19. Αναστέλλει την αντιγραφική τόσο του ιού της γρίπης Α, όσο και του Β και έχει επίσης παρουσιάσει δράση έναντι της γρίπης των πτηνών. Το FPV είναι ένα προφάρμακο που υφίσταται ενδοκυτταρική ριβοζυλίωση και φωσφορυλιώσεις, για να μετατραπεί προς το ενεργό φάρμακο, ο τριφωσφορυλιωμένος εστέρας και αποτρέπει την επιμήκυνση του RNA κλώνου κατά την αντιγραφική του. Η παρουσία αναλόγων νουκλεοζιτών της πουρίνης μπορεί να μειώσει σημαντικά την αντι-ιική δράση του favipiravir, υποδηλώνοντας ότι υφίσταται ανταγωνισμός μεταξύ του favipiravir και των φυσικών νουκλεοζιτών για την ίδια θέση σύνδεσης.

Κλινικές δοκιμές ασθενών με COVID-19, που βρίσκονται σε εξέλιξη, χρησιμοποιούν αρχική δόση FPV

1600 mg, δύο φορές ημερησίως, την πρώτη ημέρα και για τις επόμενες 9 ημέρες από 600 mg, δύο φορές ημερησίως. Η ένωση favipiravir χορηγείται per os, παρουσιάζει πολύ υψηλή βιοδιαθεσιμότητα στον άνθρωπο, 98%. Οι μεταβολίτες του εκκρίνονται κατά κύριο λόγο από τους νεφρούς και ο χρόνος ημιζωής του εκτιμάται ότι κυμαίνεται από 2 έως 5,5 ώρες. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες του favipiravir, που αναφέρθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης για τη θεραπεία γρίπης, περιλαμβάνουν ήπια έως μέτρια διάρροια, ασυμπτωματική αύξηση του ουρικού οξέος του αίματος και των τρανσαμινασών και μείωση του αριθμού των ουδετερόφιλων.

Η καρβοξαμιδική ομάδα της ένωσης favipiravir περιλαμβάνεται και στη δομή ενός άλλου αντι-ιικού φαρμάκου, στην ένωση ribavirin<sup>63</sup>. Η ένωση ribavirin είναι εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία του HCV και του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV) και έχει αξιολογηθεί σε ασθενείς με SARS και MERS, αλλά οι ανεπιθύμητες ενέργειές του, όπως η αναιμία, μπορεί να είναι σοβαρές σε υψηλές δόσεις. Ωστόσο, και οι δύο αυτές δραστικές ενώσεις θεωρούνται σαν γουανιδικά παράγωγα, επειδή σχηματίζουν σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με την κυτοσίνη κατά τη σύζευξη των βάσεων στη συγκρότηση διπλής έλικας<sup>64</sup> (σχήμα 11).

Μία άλλη ένωση που έχει τον ίδιο στόχο δράσης με την remdesivir, αλλά έχει το πλεονέκτημα να δίνεται per os και όχι ενδοφλέβια, όπως η remdesivir, είναι ο 5'-ισοπροπυλεστέρας της β-D-N4-υδροξυκυτιδίνης, EIDD-2801. Η ένωση β-D-N4-υδροξυκυτιδίνης,



**Σχήμα 12:** Η EIDD-1931, με την ταυτομερή μορφή της οξίμης, προσομοιάζει στην ουριδίνη και συζεύγνυται με την αδενοσίνη (αριστερά), ενώ η άλλη ταυτομερής μορφή προσομοιάζει στην κυτιδίνη και συζεύγνυται με τη γουανοσίνη (δεξιά).

νη (NHC), EIDD-1931 έχει ευρύ αντι-ικό φάσμα έναντι του chikungunya\*, του ιού της εγκεφαλίτιδας των ίππων της Βενεζουέλας (VEEV), του αναπνευστικού συγκυτιακού ιού (RSV), ιού της ηπατίτιδας C, νοροϊούς, ιούς της γρίπης A και B, καθώς και του ιού Ebola.

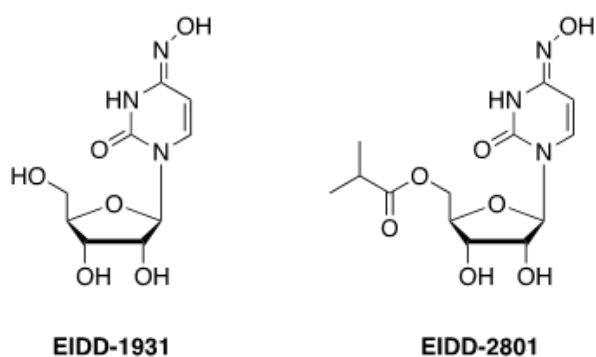
Η ένωση  $\beta$ -D-N4-υδροξυκυτιδίνη (NHC), EIDD-1931, μπορεί να υπάρχει σε δύο ταυτομερείς μορφές και η εναλλαγή μεταξύ αυτών των δυο μορφών μπορεί να προκαλέσει αναντιστοιχία κατά τη μεταγραφή. Στη μία μορφή, η EIDD-1931 προσομοιάζει στην κυτιδίνη, με έναν μόνο δεσμό μεταξύ του άνθρακα και της ομάδας N-OH. Στην άλλη της μορφή (οξίμη με διπλό δεσμό μεταξύ του άνθρακα και της ομάδας N-OH) προσομοιάζει στην ουριδίνη. Έτσι, όταν ο ιός αναπτύσσεται, παρουσία EIDD-1931, η εξαρτώμενη από RNA πολυμεράση RNA θεωρεί την ένωση ως ουριδίνη, αντί για κυτιδίνη, οπότε συζεύγνυται με την αδενοσίνη, αντί της γουανοσίνης, όπως απεικονίζεται στο **σχήμα 12**. Αυτή η λανθασμένη «ανάγνωση» δημιουργεί ένα τεράστιο αριθμό μεταλλάξεων στο ιικό γονιδίωμα, με αποτέλεσμα οι νέοι ιοί να μην είναι λειτουργικοί. Επομένως, η ένωση EIDD-1931 αλ-

ληλεπιδρά με την RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση (RdRp) με διαφορετικό τρόπο σε σχέση με τα προηγούμενα νουκλεοσιδικά ανάλογα, γεγονός που της επιτρέπει να αποφεύγει τις επιδιορθώσεις της ικής 3'-5' εξωριβονουκλεάσης (ExoN).

Κατά την *in vivo* φαρμακολογική εξέταση σε ποντίκια και σκύλους, η ένωση EIDD-1931 παρουσίασε την επιθυμητή δράση. Ωστόσο, κατά την εξέταση σε ανώτερα θηλαστικά (μαϊμούδες) βρέθηκε ότι η EIDD-1931 φωσφορυλιώνεται στην 5'-OH θέση και εγκλωβίζεται στο εντερικό επιθήλιο των μαϊμούδων, χωρίς να εκδηλωθεί η αντι-ική δράση. Για να υπερβληθεί αυτό το εμπόδιο, σχεδιάστηκε ο αντίστοιχος εστέρας στη θέση 5'-OH (**σχήμα 13**). Το προφάρμακο EIDD-2801 που προέκυψε, υδρολύεται από τις εστεράσες, οι οποίες βρίθουν στο αίμα και αποδεσμεύεται η ενεργός μορφή της δραστικής ένωσης.

Πολλά ακόμα πειραματικά και εγκεκριμένα φάρμακα χρησιμοποιήθηκαν σε κλινικές δοκιμές για την αντιμετώπιση της νόσου COVID-19, τα οποία στην αρχή παρουσίασαν λιγότερο ή περισσότερο ενθαρρυντικά αποτελέσματα που δεν επιβεβαιώθηκαν, οπότε

\*στα σουαχίλι σημαίνει "αυτός που βαδίζει σκυφτός" λόγω των έντονων αρθραλγιών που προκαλεί ο ιός



**Σχήμα 13:** Δομή της ένωσης β-D-N4-υδροξυκυτιδίνη (NHC), EIDD-1931 και του προφαρμάκου της, EIDD-2801.

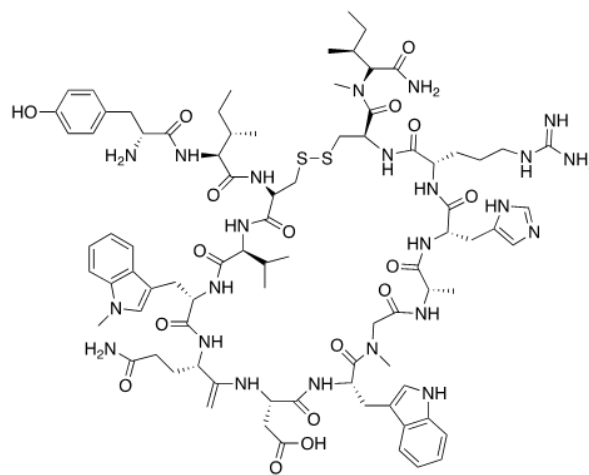
και δεν συμπεριλήφθηκαν στη συνέχεια στο θεραπευτικό πρωτόκολλο της νόσου<sup>59</sup>. Ενδεικτικά αναφέρεται ο συνδυασμός των αναστολέων της ασπαρτικής πρωτεάσης του HIV των πεπτιδομμητικών ενώσεων lopinavir/ritonavir<sup>65</sup>, που τελικά δεν υιοθετήθηκε για την αντιμετώπιση της νόσου. Ιδιαίτερη αναφορά θα γίνει επίσης για τα γνωστά και παλιά ανθελονοσιακά φάρμακα της υδροχλωρικής ή φωσφορικής χλωροκίνης και της θειικής υδροξυχλωροκίνης. Η χλωροκίνη έχει παρουσιαστεί αναλυτικά για την σχισοκοτόνο δράση της κατά την ερυθροκυτταρική φάση των μεροζωιδίων όλων των τύπων των πλασμοδίων και είναι γνωστή η ανοσοκατασταλτική της δράση κατά των αυτοάνοσων νοσημάτων. Αρχικές μελέτες για τη χρήση της χλωροκίνης σε συνδυασμό με την αζιθρομυκίνη εμφάνισαν θετικά αποτελέσματα, κατά της νόσου COVID-19, με την υποσημείωση της καρδιοτοξικότητας και των κοιλιακών αρρυθμιών από την παράταση του επάρματος QT του μυοκαρδιακού κυτταρικού δυναμικού ενεργείας, λόγω της χλωροκίνης. Τελικά, η χλωροκίνη αφαιρέθηκε από τη φαρέτρα των φαρμάκων κατά του κορωνοϊού SARS-CoV-2 μετά την κατάληξη ασθενών με COVID-19 από καρδιολογικά αίτια<sup>66</sup>. Οι θετικές όμως θεραπευτικές ενδείξεις της χλωροκίνης, πιθανώς να υποδεικνύουν μια κατεύθυνση για την επιστημονική έρευνα και την ανακάλυψη νέων δραστικών ενώσεων, που να στηρίζονται στο μηχανισμό δράσης της χλωροκίνης, σε ό,τι αφορά στη λυσοσωμική δραστηριότητα σε μοριακό επίπε-

δο, την αυτοφαγία και την ανοσορρυθμιστική δράση στις φλεγμονώδεις κυτοκίνες<sup>67,68</sup>.

## 5.6 Άλλες θεραπευτικές προσεγγίσεις

Ως μία πιθανή εξήγηση για το μηχανισμό της πολυοργανικής ανεπάρκειας της νόσου COVID-19 προτείνεται, επίσης, η υπέρμετρη ενεργοποίηση μίας ομάδας πρωτεϊνών της φυσικής ανοσίας, το «σύστημα του συμπληρώματος», που οδηγεί στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων κυττάρων. Τα ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα παράγουν στην κυκλοφορία του αίματος τις εξωκυτταρικές παγίδες ουδετερόφιλων NETs (Neutrophil Extracellular Traps), οι οποίες μεταφέρουν ισχυρούς φλεγμονώδεις παράγοντες στο ενδοθήλιο των αγγείων και προκαλούν τη θρόμβωση στη μικροκυκλοφορία, καθώς και τη λειτουργική ανεπάρκεια πολλών οργάνων. Ωστόσο, η αναστολή της κομβικής πρωτεΐνης C3 του συμπληρώματος από το κυκλικό πολυπεπτίδιο AMY-101 (Cr40) μπορεί να εξουδετερώσει τον μηχανισμό της υπέρμετρης φλεγμονής και θρόμβωσης που προκαλείται από τα ουδετερόφιλα και τα NETs<sup>69</sup> (σχήμα 14).

Άλλη θεραπευτική προσέγγιση, έναντι της νόσου COVID-19, είναι η ανοσοποίηση, παθητική και ενεργητική. Η λοίμωξη COVID-19 προκαλεί την ανάπτυξη IgG και IgM αντισωμάτων σε διάστημα ημερών ή εβδομάδων μετά από την έναρξη των συμπτωμάτων.



**Σχήμα 14:** Δομή του πολυπεπτιδίου AMY-101 (Cr40)

Οι μέχρι σήμερα μελέτες αναφέρουν ότι οι ασθενείς με σοβαρή μορφή της νόσου παρουσιάζουν υψηλότερους τίτλους αντισωμάτων. Παρ' όλα αυτά, η παρουσία αντισωμάτων και οι υψηλοί τίτλοι δεν σχετίζονται πάντοτε με την κλινική βελτίωση της νόσου. Επιπλέον, δεν έχει παρατηρηθεί ανάπτυξη ισόβιας ανοσίας μετά από προσβολή από οποιοδήποτε στέλεχος κορωνοϊού. Ωστόσο, η χρήση αντισωμάτων IgG και IgM, από ασθενείς με COVID-19 που έχουν αναρρώσει, θα μπορούσε να αποτελέσει μία εναλλακτική στρατηγική παθητικής ανοσοποίησης για ασθενείς υψηλού κινδύνου. Η θεραπευτική μετάγγιση πλάσματος (άνοσου ορού) θα πρέπει να γίνεται στα πρώτα στάδια της νόσου, πριν την ανάπτυξη σηπτικού shock ή πολυοργανικής λειτουργικής ανεπάρκειας. Θα πρέπει, όμως, να σημειωθεί ότι η μετάγγιση του πλάσματος ενέχει κίνδυνο μεταβολής της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή και αλλεργικών αντιδράσεων.

Μία προσέγγιση που έχει δείξει θετικά δείγματα στις πρώιμες κλινικές μελέτες είναι τα τεχνητά αντισώματα που παράγονται στο εργαστήριο, αν και προς το παρόν τα δεδομένα είναι περιορισμένα. Σύμφωνα με αρχικά αποτελέσματα φάνηκε να μειώνουν τον κίνδυνο διασωλήνωσης ή θανάτου στους νοσηλευόμενους με COVID-19 ασθενείς και να μειώνουν το υικό φορτίο του SARS-CoV-2. Ένα πειραματικό μονοκλωνικό αντίσωμα της Eli Lilly, το LY-CoV555 (bamlanivimab), το οποίο στρέφεται εναντίον της ακιδωτής S πρωτεΐνης του SARS-CoV-2, μείωσε σημαντικά, μετά από μερικές μέρες, τα επίπεδα του κορωνοϊού και τα συμπτώματα στους ανθρώπους που χορηγήθηκε, καθώς και την πιθανότητα εισαγωγής τους στο νοσοκομείο<sup>70</sup>. Σύμφωνα με τη μελέτη BLAZE-1, σε 452 ασθενείς που είχαν πρόσφατα διαγνωσθεί με COVID-19, το 1,7% των ασθενών που πήραν το αντίσωμα LY-CoV555, σε μία δόση, εισήχθησαν τελικά στο νοσοκομείο, έναντι 6% από αυτούς είχαν πάρει εικονικό φάρμακο. Στις 9 Νοεμβρίου 2020, ο FDA χορήγησε άδεια έκτακτης ανάγκης (EUA) για το bamlanivimab 700 mg για τη θεραπεία ήπιας έως μέτριας COVID-19 σε ενήλικες και παιδιατρικούς ασθενείς ηλικίας 12 ετών και άνω, οι οποίοι διατρέχουν υψηλό κίνδυνο να προχωρήσουν σε σοβαρή COVID-19 ή/και νοσηλεία. Το bamlanivimab πρέπει να χορηγείται το συντομότερο δυνατό μετά

από θετικό τεστ COVID-19 και εντός 10 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων<sup>71</sup>.

Αντίθετα, η κλινική δοκιμή ACTIV-3, η οποία διεξάγεται από το Εθνικό Ινστιτούτο Αλλεργίας και Λοιμωδών Νοσημάτων (NIAID), μέρος του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH) των ΗΠΑ, διεκόπη από το NIH, καθώς διαπιστώθηκε ότι είναι απίθανο να βελτιώσει τα αποτελέσματα στον πληθυσμό των ασθενών, που μελετήθηκαν, και οι διαφορές στα αποτελέσματα ασφάλειας μεταξύ των ομάδων δεν ήταν σημαντικές. Ενώ η ασφάλεια ήταν η αιτία για την παύση, η επιτροπή παρακολούθησης δεν αξιολόγησε, επιπλέον, σημαντικές διαφορές ασφάλειας στο ενημερωμένο σύνολο δεδομένων (ACTIV-3)<sup>72</sup>. Παράλληλα, δοκιμάζεται από την ίδια εταιρεία και ένα δεύτερο μονοκλωνικό αντίσωμα, το LY-CoV016 (etesevimab), το οποίο προσδένεται σε διαφορετικό σημείο πάνω στο SARS-CoV-2<sup>73</sup>. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν πολλά μονοκλωνικά αντισώματα υπό εξέταση παγκοσμίως, συγκεντρώνοντας το ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα για την αντιμετώπιση της πανδημίας COVID-19. Παρ' όλα αυτά η μαζική παραγωγή τους με τη βοήθεια βακτηρίων είναι αρκετά δύσκολη, δαπανηρή και χρονοβόρα.

Πρόσφατα, τρεις φαρμακοβιομηχανίες, η Amgen Inc., η Takeda Pharmaceutical Inc. και η UCB ξεκίνησαν μια παγκόσμια κλινική δοκιμή, COMMUNITY trial, κατά του νέου κορωνοϊού SARS-CoV-2, για να διαπιστώσουν εάν κάποιο από τρία φάρμακα, apremilast, lanadelumab και zilucoplan, μπορεί να μειώσει τη βαρύτητα της νόσου COVID-19 σε νοσηλευόμενους ασθενείς<sup>74</sup>. Το Otezla® (apremilast), ήδη εγκεκριμένο φάρμακο για τη θεραπεία της ψωρίασης και της ψωριασικής αρθρίτιδας, αναστέλλει τη δράση του ενζύμου φωσφοδιεστεράσης 4 (PDE4), και την παραγωγή κυτοκινών, που συμμετέχουν στη δημιουργία φλεγμονής. Το Takhzyro® (lanadelumab) είναι ένα πλήρως ανθρώπινο, μονοκλωνικό αντίσωμα που αναστέλλει την πρωτεολυτική δραστηριότητα της ενεργού καλρικρεΐνης στο πλάσμα και χρησιμοποιείται στο κληρονομικό αγγειοοίδημα<sup>74</sup>. Το zilucoplan, ερευνητική φαρμακευτική ένωση για τη μυασθένεια Gravis σε Φάση III, είναι ένας υποδόριος αναστολέας του C5 πεπτιδίου<sup>74</sup>. Στόχος αυτής της μελέτης είναι να εξεταστεί αν κάποιο από τα παραπάνω φάρμακα μπορεί να απο-



τρέψει την υπερβολική αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος στον ιό SARS-CoV-2.

## 6. Ανάπτυξη εμβολίων

Κατά την πανδημία COVID-19, η ανοσοποίηση του πληθυσμού, μέσω εμβολιασμού αναγνωρίζεται ως πρώτη προτεραιότητα για τη δημόσια υγεία<sup>75</sup>. Η ανάπτυξη ενός εμβολίου αποτελεί μια πολύπλοκη και χρονοβόρα διαδικασία που διαρκεί 12-15 χρόνια και διαφέρει από την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Ενώ τα φάρμακα προσανατολίζονται στη θεραπεία μιας ασθένειας της οποίας τα συμπτώματα έχουν εμφανιστεί, το εμβόλιο προορίζεται για χρήση σε άτομα που δεν έχουν ακόμη εμφανίσει συμπτώματα ασθένειας, προκειμένου να αποφευχθεί η εμφάνιση της νόσου. Οι κλινικές δοκιμές για την αποτελεσματικότητα ενός εμβολίου εστιάζονται στην απόδειξη της ικανότητάς του να αποτρέπει την ασθένεια-στόχο, με ελάχιστες ανεπιθύμητες ενέργειες, που εμφανίζονται βραχυπρόθεσμα με αποτέλεσμα την ανάγκη συμμετοχής περισσότερων ατόμων από ό, τι σε συμβατικές μελέτες φαρμάκων. Οι μακροχρόνιες παρενέργειες των εμβολίων είναι πιο σπάνιες και, εάν υπάρχουν, εμφανίζονται κατά τη διάρκεια των δοκιμών που είναι της χρονικής τάξεως δεκαετίας. Ωστόσο, αγώνας δρόμου σε παγκόσμια κλίμακα βρίσκεται σε εξέλιξη για την ανάπτυξη εμβολίων, διαφορετικής τεχνολογίας, κατά του SARS-CoV-2<sup>76</sup>. Ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της ανάπτυξης των εμβολίων για τη νόσο COVID-19 είναι το εύρος των νέων τεχνολογιών που αξιολογούνται, όπως εμβόλια νουκλεϊκών οξέων (DNA και RNA), εμβόλια σύζευξης, εμβόλια υπομονάδων, πεπτιδίων και ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης, τοξικογενή, εμβόλια εξασθενημένων ιών και αδρανοποιημένων ιών. Επιπλέον, υπάρχουν ολόένα και περισσότερες ενδείξεις ότι εμβόλια που περιέχουν ζωντανά εξασθενημένα παθογόνα στελέχη μικροοργανισμών, παρέχουν προστασία έναντι θανατηφόρων λοιμώξεων που δεν σχετίζονται με το παθογόνο στόχο του εμβολίου, επειδή προκαλούν την παραγωγή «εκπαιδευμένων» ανοσοκυττάρων και βελτιώνουν την ανοσοαπάντηση των ξενιστών έναντι επακόλουθων λοιμώξεων. Αυτή είναι η περίπτωση δυο διαφορετικών εμβολίων, του εμβολίου

Bacillus Calmette-Guérin (BCG), κατά της φυματίωσης και του MMR (Measles-Mumps-Rubella), εμβολίου κατά της ιλαράς, παρωτίτιδας, και ερυθράς, που επιδημιολογικά συσχετίστηκαν με χαμηλότερα ποσοστά θνητότητας, ως προς τη νόσο COVID-19, των πληθυσμών που είχαν εμβολιαστεί σε σχέση με τους ανεμβολίαστους πληθυσμούς<sup>77</sup>.

Σύμφωνα με τις ανακοινώσεις των εταιρειών με τα υπό ανάπτυξη εμβόλια, δύο τουλάχιστον εμβόλια κατά του SARS-CoV-2 θα είναι διαθέσιμα έως τα τέλη του 2020. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), μέχρι τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, πάνω από 50 διαφορετικά εμβόλια δοκιμάζονται σε κλινικές δοκιμές σε ανθρώπους, 11 από τα οποία βρίσκονται στη Φάση III<sup>78</sup>. Μία πρωτοποριακή παγκόσμια συνεργασία, COVID-19 COVAX, έχει δημιουργηθεί για την επιτάχυνση της ανάπτυξης, της παραγωγής και της δίκαιης πρόσβασης σε δοκιμές, θεραπείες και εμβόλια για τη νόσο COVID-19<sup>79</sup>. Στόχος της είναι να επιταχύνει την ανάπτυξη και κατασκευή εμβολίων και να διασφαλίσει δίκαιη πρόσβαση για κάθε χώρα του κόσμου<sup>79</sup>.

Η αμερικανική βιοφαρμακευτική εταιρεία Moderna, σε συνεργασία με το Εθνικό Ινστιτούτο Υγείας των ΗΠΑ (NIH), έλαβε επιβεβαίωση της καταλληλότητας του υπό ανάπτυξη εμβολίου της, mRNA-1273, για τη νόσο COVID-19 σύμφωνα με τη Φάση III της μελέτης COVE, με 33.000 εθελοντές<sup>80</sup>. Σύμφωνα με πρώιμα στοιχεία της Φάσης III πουδόθηκαν στη δημοσιότητα, το εμβόλιο παρουσιάζει 94,5% αποτελεσματικότητα έναντι του SARS-CoV-2<sup>81</sup>. Τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν στην Επιτροπή Ασφάλειας και Παρακολούθησης Δεδομένων, έναν ανεξάρτητο φορέα ανάλυσης των στοιχείων που προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες. Η ενδιαμέση ανάλυση περιελάμβανε 95 συμπτωματικούς ασθενείς με COVID-19, από τους οποίους οι 90 ήταν από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου και οι 5 ανήκαν στην ομάδα των εμβολιασμένων. Από αυτούς τους ασθενείς, 11 εμφάνισαν σοβαρή μορφή COVID-19 οι οποίοι ανήκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>82</sup>. Η Moderna ανέφερε ότι το εμβόλιο mRNA-1273 έγινε καλά ανεκτό στους εθελοντές, χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες και ένα μικρό ποσοστό εμφάνισε μυϊκά άλγη και πονοκεφάλους.

Παρ' όλα αυτά, εκκρεμούν περισσότερα δεδομένα, όπως για το αν προστατεύει και στην ασυμπτωματική φορεία. Ένα μεγάλο πλεονέκτημα είναι ότι δεν απαιτεί κατάψυξη των  $-70^{\circ}\text{C}$  για τη συντήρησή του, αλλά μεταφέρεται και στους  $-20^{\circ}\text{C}$  και διατηρείται για 30 ημέρες σε τυπικές θερμοκρασίες ψύξης  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

Τον Σεπτέμβριο του 2020, η γαλλική φαρμακευτική εταιρεία Janssen ξεκίνησε δοκιμές Φάσης III (ENSEMBLE) του υποψήφιου εμβολίου, JNJ-78436735, το οποίο αξιοποιεί την τεχνολογική πλατφόρμα AdVac®, που χρησιμοποιήθηκε πρόσφατα και για την ανάπτυξη και την παρασκευή του εμβολίου της Janssen κατά του ιού Έμπολα, καθώς και των υποψήφιων εμβολίων κατά των ιών HIV, Zika και RSV<sup>83</sup>. Η αμερικανική εταιρεία Novavax ξεκίνησε το Σεπτέμβριο του 2020 τις δοκιμές Φάσης III για το ανοσοενισχυτικό εμβόλιο, NVX-CoV2373<sup>84</sup>.

Η εταιρεία Sanofi σε συνεργασία με την Translate Bio ανακοίνωσαν θετικά προκλινικά αποτελέσματα για το πειραματικό mRNA εμβόλιο, MRT5500, αναφέροντας ότι προκαλεί θετική ανοσολογική αντίδραση σε ποντίκια και πιθήκους, ενώ οι δοκιμές Φάσης I/II σε ανθρώπους θα ξεκινήσουν πριν το τέλος του έτους<sup>85</sup>. Επιπλέον, η Sanofi σε συνεργασία με την GlaxoSmithKline, αναπτύσσει ένα ακόμα υποψήφιο εμβόλιο για τον COVID-19 με βάση την ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, ξεκινώντας κλινική δοκιμή Φάσης I/II<sup>86</sup>. Το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης και η εταιρεία AstraZeneca αναπτύσσουν το εμβόλιο αδενοϊκού φορέα AZD1222 ή ChAdOx1 (Φάση III). Τα αποτελέσματα από τη δοκιμή Φάσης I του εμβολίου δείχνουν ότι είναι ασφαλές και προκαλεί ικανή ανοσοαπόκριση<sup>87</sup>. Στα αποτελέσματα μίας ενδιάμεσης ανάλυσης της Φάσης III, η AstraZeneca ανέφερε ότι το AZD1222, το οποίο χρησιμοποιήθηκε σε δύο διαφορετικά δοσολογικά σχήματα, είχε αποτελεσματικότητα 90%, σε όσους έλαβαν αρχικά την τυπική δόση κατά το ήμισυ, ακολουθούμενο από πλήρη δόση, τουλάχιστον ένα μήνα μετά, και αποτελεσματικότητα 62%, σε όσους έλαβαν δύο πλήρεις δόσεις με διαφορά τουλάχιστον ενός μήνα. Το συγκεκριμένο εμβόλιο μπορεί να αποθηκευτεί σε κανονικές συνθήκες ψύξης για τουλάχιστον έξι μήνες.

Οι εταιρείες BioNTech και Pfizer Inc. πραγματοποιούν δοκιμές Φάσης III του mRNA εμβολίου

του BNT162b2, σε δόση 30  $\mu\text{g}$  σε σχήμα δύο δόσεων, με πάνω από 44.000 εθελοντές στις ΗΠΑ, την Αργεντινή, Νότια Αφρική, Γερμανία και τη Βραζιλία<sup>88</sup>. Η Pfizer έλαβε την έγκριση του FDA για την ένταξη παιδιών ηλικίας 12 ετών και άνω, στα κλινικά δείγματα των μελετών για την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα του υπό ανάπτυξη εμβολίου. Τα πρώτα αποτελέσματα από την κλινική δοκιμή Φάσης III του εμβολίου των Pfizer/BioNtech η οποία είναι ακόμα σε εξέλιξη<sup>89</sup>, δείχνουν ότι το BNT162b1 έχει 95% αποτελεσματικότητα 28 ημέρες μετά την πρώτη δόση. Μέχρι στιγμής, αξιολογήθηκαν 170 επιβεβαιωμένες περιπτώσεις λοίμωξης COVID-19, από τις οποίες 162 παρατηρήθηκαν στην ομάδα εικονικού φαρμάκου και 8 στην ομάδα των εμβολιασθέντων. Οι εταιρείες ανακοίνωσαν ότι το εμβόλιο ήταν καλά ανεκτό και δεν παρατηρήθηκαν σοβαρές ανησυχίες για την ασφάλειά του, με 3,8% των εθελοντών να αναφέρει κόπωση και 2% πονοκεφάλους<sup>90</sup>.

Στις αρχές Οκτωβρίου 2020, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων δήλωσε ότι ξεκίνησε μια ανασκόπηση, για να επιταχύνει την αξιολόγηση δύο εμβολίων για τη νόσο COVID-19, το εμβόλιο, που αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο της Οξφόρδης / AstraZeneca και το mRNA εμβόλιο που αναπτύχθηκε από την BioNTech / Pfizer. Μέχρι στιγμής, τα εμβόλια BNT162b1 και mRNA-1273 παρουσιάζουν παρόμοια ποσοστά αποτελεσματικότητας, καθώς έχουν αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνική χορήγησης αγγελιοφόρου RNA (mRNA) και απαιτούν δύο δόσεις, ώστε να παραχθεί ο ικανός αριθμός αντισωμάτων. Πολλές ακόμα εταιρείες διεξάγουν κλινικές μελέτες με στόχο την εύρεση ασφαλών και αποτελεσματικών εμβολίων, όπως η CureVac, η Medicago, η Inovio, η Sinopharm κ.ά. Ωστόσο, οι εταιρείες Pfizer/BioNtech και Moderna έλαβαν έκτακτη άδεια κυκλοφορίας από τους αδειοδοτικούς οργανισμούς, EMA και FDA, ΕΕ και ΗΠΑ, αντίστοιχα, όπως και η AstraZeneca από τον Ρυθμιστικό Οργανισμό Φαρμάκων και Προϊόντων Υγείας (MHRA) του Ηνωμένου Βασιλείου.

Η Ρωσία παρουσίασε ελπιδοφόρα στοιχεία για το εμβόλιο Sputnik V<sup>91</sup>, το οποίο βρίσκεται στη Φάση III των κλινικών μελετών. Το εμβόλιο περιέχει δύο φο-

ρείς, τον ανασυνδυασμένο αδενοϊό τύπου 26 (rAd26) και τον ανασυνδυασμένο αδενοϊό τύπου 5 (rAd5), που φέρουν ολόκληρο το γονίδιο της S γλυκοπρωτεΐνης του νέου κορωνοϊού (rAd26-S και rAd5-S)<sup>92</sup>. Ο εμβολιασμός με το Sputnik-V, πραγματοποιείται σε δύο στάδια, και σύμφωνα με το Εθνικό Ερευνητικό Κέντρο Gamaleya της Ρωσίας, που παρήγαγε το εμβόλιο, τα αποτελέσματα σε μία δεύτερη ενδιάμεση ανάλυση δεδομένων Φάσης III, έδειξαν ότι ήταν αποτελεσματικό κατά 91,4%, την 28η ημέρα και πάνω από 95% την 42η ημέρα<sup>93</sup>. Το εμβόλιο Sputnik-V έχει λάβει έκτακτη άδεια κυκλοφορίας από 14 χώρες μέχρι στιγμής.

Ωστόσο, μόλις εγκριθεί ένα εμβόλιο, οι κατασκευαστές πρέπει να διασφαλίσουν ότι υπάρχει επαρκής ποσότητα, ώστε να διανεμηθεί δίκαια παγκοσμίως. Μέχρι τότε η χορήγησή του θα δοθεί βάσει προτεραιοτήτων, ανάλογα με την ηλικία και τον κλινικό κίνδυνο. Οι εταιρείες Pfizer και Moderna ανέφεραν ότι θα παράγουν αρκετά εμβόλια για 35 εκατομμύρια άτομα το 2020 και ίσως έως και 1 δισεκατομμύριο το 2021<sup>94</sup>. Ακόμη δεν είναι γνωστό για πόσο καιρό μπορεί να διαρκέσει η προστασία που προκαλείται από το εμβόλιο στους ανθρώπους και παραμένει πιθανό να απαιτηθούν ενισχυτικοί εμβολιασμοί για τη διατήρηση της προστασίας έναντι του νέου κορωνοϊού. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας θέτει ως στόχο τουλάχιστον 50% (κατά προτίμηση 70%) αποτελεσματικότητα για τα εμβόλια SARS-CoV-2<sup>95</sup>. Επιπλέον, υπάρχουν ορισμένες ανησυχίες σχετικά με τη μεταφορά και την αποθήκευση των εμβολίων, γεγονός που περιπλέκει την αποστολή και διάθεση, καθώς για παράδειγμα, το mRNA είναι φυσικά ασταθές και πρέπει να αποθηκευτεί κατεψυγμένο σε θερμοκρασία κάτω των -20° C, και σε ορισμένες περιπτώσεις μέχρι -70 και -80 ° C<sup>96</sup>.

## 7. Εξετάσεις ανίχνευσης του ιού SARS-CoV-2

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) συστήνει, όποτε αυτό είναι εφικτό, να λαμβάνονται κλινικά δείγματα από το κατώτερο αναπνευστικό σύστημα, όπως πτυέλα, ενδοτραχειακές εκκρίσεις ή βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, καθώς έχουν υψηλότερη διαγνωστική αξία από τα δείγματα του ανώτερου αναπνευ-

στικού συστήματος. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό ή οι ασθενείς δεν εμφανίζουν συμπτώματα ή σημεία λοίμωξης κατώτερου αναπνευστικού, τότε θα πρέπει να λαμβάνονται δείγματα από το ανώτερο αναπνευστικό, όπως ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις ή συνδυασμός δειγμάτων ρινοφαρυγγικού και στοματοφαρυγγικού επιχρίσματος<sup>97</sup>.

Οι εξετάσεις ανίχνευσης του νέου κορωνοϊού SARS CoV-2 χωρίζονται σε αυτές που αναζητούν άμεσα την παρουσία του ιού (RT-PCR) και σε αυτές που την αναζητούν έμμεσα (ανίχνευση αντισωμάτων). Υπάρχουν τρεις βασικοί τύποι προσδιορισμών ανίχνευσης του νέου κορωνοϊού SARS CoV-2: ο μοριακός έλεγχος (RT-PCR), η ταχεία ανίχνευση αντιγόνου (rapid test) και η ανίχνευση αντισωμάτων<sup>98</sup>.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) είναι μία μέθοδος, με τη βοήθεια ενζύμων, κατά την οποία απομονώνεται και πολλαπλασιάζεται μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA. Για την ανίχνευση του SARS CoV-2, χρησιμοποιείται η PCR πραγματικού χρόνου (Real Time PCR) η οποία αποτελεί την πιο αξιόπιστη μέθοδο για τον έλεγχο ενεργού λοίμωξης από SARS CoV-2. Παρ' όλα αυτά, η μοριακή μέθοδος μπορεί να είναι αρνητική σε πολύ αρχικά στάδια της νόσου, καθώς και σε ορισμένους ασθενείς, στους οποίους ο ιός μπορεί να συνεχίσει να υπάρχει στους πνεύμονες, αλλά να μην υπάρχει στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα<sup>98,99</sup>.

Επιπλέον, υπάρχουν τα τεστ ταχείας ανίχνευσης αντιγόνων του SARS-Cov-2 (rapid tests). Σήμερα διατίθεται μία πληθώρα ταχέων τεστ, τα οποία βασίζονται είτε σε μοριακή ανίχνευση του ιού, ή σε ανίχνευση αντισωμάτων, ή στην ανίχνευση αντιγόνων του ιού. Τα τεστ αυτά μειώνουν σημαντικά το χρόνο ανάλυσης και δίνουν τη δυνατότητα αύξησης του αριθμού των εξεταζόμενων δειγμάτων. Προς το παρόν μόνο τα εργαστηριακά μοριακά τεστ που βασίζονται σε RT-PCR συστήνονται από τον ΠΟΥ, ενώ τα τεστ ταχείας ανίχνευσης προτείνονται για ερευνητικούς σκοπούς. Ωστόσο, τα ταχεία τεστ μπορούν να αποτελέσουν μια σημαντική βάση για την ανάπτυξη εμβολίων<sup>98</sup>.

Τα τεστ αντισωμάτων γίνονται με αιμοληψία και ανιχνεύονται στον ορό τα ειδικά για τον ιό αντισώματα που παράγει ο ανθρώπινος οργανισμός και ει-

να τριών ειδών: IgA, IgG και IgM. Τα αντισώματα IgG χρησιμοποιούνται, για να διαπιστωθεί εάν ο ασθενής έχει προσβληθεί από τον ιό στο παρελθόν και έχει αποκτήσει ανοσία, ενώ τα IgM δείχνουν, εάν υπάρχει ενεργή λοίμωξη. Με αυτό τον τρόπο διαπιστώνεται εάν ο εξεταζόμενος έχει προσβληθεί, κάποια στιγμή στο παρελθόν, από τον ιό. Τα αντισώματα παράγονται από τα B-λεμφοκύτταρα και χρησιμοποιούνται από το ανοσοποιητικό σύστημα, για να αναγνωρίσουν και να ακινητοποιήσουν εισβολείς, όπως είναι τα βακτήρια και οι ιοί<sup>98,99</sup>. Τα αντισώματα αρχίζουν συνήθως να αναπτύσσονται εντός 1 έως 3 εβδομάδων μετά τη μόλυνση<sup>100</sup>. Αυτά τα τεστ δεν είναι 100% ακριβή και ενδέχεται να προκύψουν ψευδώς θετικά ή ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα των τεστ αντισωμάτων δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση ασθενών με ενεργή λοίμωξη<sup>100</sup>.

## 8.Επίλογος

Η εξάπλωση της πανδημίας COVID-19 βρίσκεται σε εξέλιξη, κατά τη συγγραφή της παρούσας ανασκόπησης. Το 2020 ήταν ένα έτος σημαντικών επιστημονικών επι-

τευγμάτων, καθώς σε λιγότερο από 12 μήνες, ταυτοποιήθηκε μια νέα ασθένεια, καταγράφηκε το γονιδίωμα ενός νέου ιού, αποκωδικοποιώντας τη γενετική σύσταση του SARS-CoV-2, εφαρμόστηκαν νέες διαγνωστικές εξετάσεις για την ανίχνευσή του, αναπτύχθηκαν νέα πρωτόκολλα θεραπείας, αποτελεσματικά φάρμακα και νέα εμβόλια με τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες<sup>94</sup>. Η επιστημονική κοινότητα έχει κινητοποιηθεί με πρωτόγνωρους ρυθμούς, για να αντιμετωπίσει την υγειονομική κρίση, που έχει προκύψει σε παγκόσμια κλίμακα. Οι επιστημονικές μέθοδοι εξελίσσονται και νέες τεχνολογίες αναπτύσσονται, για να ανταποκριθούν στην επιβεβλημένη αναγκαιότητα. Οι συνέπειες της νόσου επηρεάζουν κάθε πτυχή κοινωνικής και οικονομικής δραστηριότητας του σύγχρονου κόσμου. Αυτό το αποτύπωμα της νόσου στον ανθρώπινο πολιτισμό θα μελετηθεί με ενάργεια μετά τη λήξη της, με σκοπό τα ασφαλή συμπεράσματα που θα προκύψουν, να αποτρέψουν την επανάληψή της. □

## Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς ευχαριστούν τη σχεδιάστρια Μυρτώ Ατλάνη για την επιμέλεια των σχημάτων.

# Targets and Therapeutic Agents against SARS-CoV-2

Sofia K. Konstantinidou<sup>1\*</sup> and Ioannis P. Papanastasiou<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>First Department of Propaedeutic Internal Medicine and Diabetes Center, Medical School, Laiko General Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, 115 27 Athens, Greece, Onassis Foundation Scholar

<sup>2</sup>Division of Pharmaceutical Chemistry, Department of Pharmacy, School of Health Sciences, National and Kapodistrian University of Athens, 157 84, Athens,

## KEYWORDS:

SARS-CoV-2; COVID-19; therapeutic agents; vaccines; diagnostic tests

## ABSTRACT

The recent coronavirus outbreak of SARS-CoV-2 has spread worldwide, causing serious socioeconomical disruption. Due to the urgency of the situation, various research strategies are ongoing, in order to

evaluate the therapeutic efficacy of repurposed and experimental drugs, as there are neither prophylactic nor therapeutic treatments available. The present review provides a brief account of the



**\* CORRESPONDING AUTHOR:**

Ioannis P. Papanastasiou,  
E-mail:  
papanastasiou@pharm.uoa.gr

COVID-19 disease and the reproductive cycle of SARS-CoV-2 with host proteins. Moreover, it apposes drugs/bioactive substances and their targets, that are being or may be used for the treatment of COVID 19. These include different therapeutic classes, such as ACE2 inhibitors, TMPRSS2 and CD147 inhibitors, antivirals, cardioprotective agents and anti inflammatory drugs. Therapeutic perspectives of the various vaccines and diagnostic tests that are being developed are also discussed.

## REFERENCES

- Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents* 55, 105924, 2020.
- Gorbalenya, A. E., Baker, S., Baric, S. et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiol.* 5, 536–544, 2020.
- Ye, Z. W., Yuan, S., Yuen, K.S. et al. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 16, 1686–1697, 2020.
- Fehr, A.R., Channappanavar, R., Perlman, S. Middle East respiratory syndrome (MERS): Emergence of a pathogenic human Coronavirus. *Annu. Rev. Med.* 68, 387–399, 2017.
- Konstantinidou, S. Papanastasiou, I.P. Repurposing current therapeutic regimens against SARS-CoV-2 (Review). *Exp. Ther. Med.* 2, 5–7, 2020.
- De Savi, C., Hughes, D. L., Kvaerno, L. Quest for a COVID-19 Cure by Repurposing Small-Molecule Drugs: Mechanism of Action, Clinical Development, Synthesis at Scale, and Outlook for Supply. *Org. Process Res. Dev.* 14, 940–976, 2020.
- Docea, A. O., Tsatsakis, D., Albulescu, D. et al. A new threat from an old enemy: Re-emergence of coronavirus (Review). *Int. J. Mol. Med.* 45, 1631–1643, 2020.
- Casalino, G., Monaco, G., Di Sarro, P. P. et al. Coronavirus disease 2019 presenting with conjunctivitis as the first symptom. *Eye (Basingstoke)* 34, 1235–1236, 2020.
- Chen, N. Zhou, M., Dong, X. et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 395, 507–513, 2020.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 395, 497–506, 2020.
- Guan, W. Ni, Z., Hu, Y. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N. Engl. J. Med.* 382, 1708–1720, 2020.
- Marshall, M. The lasting misery of coronavirus long-haulers. *Nature* 585, 339–341 2020.
- Jin, J. M. Bai, P., He, W. et al. Gender Differences in Patients With COVID-19: Focus on Severity and Mortality. *Front. Public Heal.* 8, 1–6, 2020.
- Yuki, K., Fujiogi, M. & Koutsogiannaki, S. COVID-19 pathophysiology: A review. *Clin. Immunol.* 215, 108427, 2020.
- Li, Y., Zhou, W., Yang, L. & You, R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacol. Res.* 157, 104833, 2020.
- Zeberg, H., Pääbo, S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neanderthals. *Nature* 587, 610–612, 2020.
- Gil, C., Ginex, T., Maestro, I. et al. COVID-19: Drug Targets and Potential Treatments. *J. Med. Chem.* 63 (21), 12359–12386, doi:10.1021/acs.jmedchem.0c00606.
- Chen, Y., Liu, Q., Guo, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol.* 92, 418–423, 2020.
- Hou Y. J., Chiba S., Halfmann, P. et al. SARS-CoV-2

- D614G Variant Exhibits Enhanced Replication ex vivo and Earlier Transmission in vivo. *Science*, eabe8499, 2020. doi:10.1126/science.abe8499,
20. Ahidjo, B. A., Loe, M. W. C., Ng, Y. L. et al. Current Perspective of Antiviral Strategies against COVID-19. *ACS Infect. Dis.* 6, 1624–1634, 2020.
  21. Xiu, S., Dick, A., Ju, H. et al. Inhibitors of SARS-CoV-2 Entry: Current and Future Opportunities. *J. Med. Chem.* 63 (21), 12256–12274, 2020. doi:10.1021/acs.jmedchem.0c00502.
  22. Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S. et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271–280.e8, 2020.
  23. Cantuti-Castelvetri, L., Ojha, R., Pedro, L. et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science* 2985, 370 (6518), 856–860, 2020.
  24. Daly, J. L., Simonetti B., Klein K. et al. Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. *Science* 370 (6518), 861–865, 2020.
  25. Yan, T., Xiao, R., Lin, G. Angiotensin-converting enzyme 2 in severe acute respiratory syndrome coronavirus and SARS-CoV-2: A double-edged sword? *FASEB J.* 34, 6017–6026 (2020) doi:10.1096/fj.202000782.
  26. Zhang, H., Penninger, J. M., Li, Y. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med.* 46, 586–590, 2020.
  27. Saavedra, J. M. Angiotensin receptor blockers and COVID-19. *Pharmacol. Res.* 156, 104832, 2020.
  28. Castiglione, V., Chiriaco M., Emdin M., Taddei Stefano, V. G. Statin therapy in COVID-19 infection. *Eur. Hear. J. - Cardiovasc. Pharmacother.* 6(4), 258–259, 2020. doi:10.1093/ehjcvp/pvaa042.
  29. Ulrich, H., Pillat, M. M. CD147 as a Target for COVID-19 Treatment: Suggested Effects of Azithromycin and Stem Cell Engagement. *Stem Cell Rev. Reports* 16, 434–440, 2020.
  30. Uno, Y. Camostat mesilate therapy for COVID-19. *Intern. Emerg. Med.* 15, 1577–1578, 2020.
  31. Rabaan, A. A. Middle East respiratory syndrome coronavirus: five years later. *Expert Rev. Respir. Med.* 11, 901–912, 2017.
  32. Zhou, Y., Vendantham, P., Lu, K. et al. Protease inhibitors targeting coronavirus and filovirus entry. *Antiviral Res.* 116, 76–84, 2015.
  33. Yamamoto, M., Matsuyama, S., Li, X. et al. Identification of nafamostat as a potent inhibitor of middle east respiratory syndrome Coronavirus s protein-mediated membrane fusion using the split-protein-based cell-cell fusion assay. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60, 6532–6539, 2016.
  34. Bojkova, D., Bechtel M., McLaughlin K. et al. Aprotinin Inhibits SARS-CoV-2 Replication. *Cells* 9, 2377, 2020.
  35. Stopsack, K. H., Mucci, L. A., Antonarakis, E. S. et al. TMPRSS2 and COVID-19: Serendipity or opportunity for intervention? *Cancer Discov.* 10, 779–782, 2020.
  36. Zhang, C., Wu, Z., Li, J.W., Zhao H. et al. The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int. J. Antimicrob. Agents* 55(5), 105954, 2020.
  37. A Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Tocilizumab in Hospitalized Participants With COVID-19 Pneumonia - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04372186>.
  38. Roche - Roche provides an update on the phase III COVACTA trial of Actemra/RoActemra in hospitalised patients with severe COVID-19 associated pneumonia. <https://www.roche.com/investors/updates/inv-update-2020-07-29.htm>.
  39. Furlow, B. COVACTA trial raises questions about tocilizumab's benefit in COVID-19. *Lancet Rheumatol.* 2, e592, 2020.
  40. Andreaskos, E., Tsiodras, S. COVID-19: lambda interferon against viral load and hyperinflammation. *EMBO Mol. Med.* 12, e12465, 2020. doi:10.15252/emmm.202012465.
  41. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.* (2020) doi:10.1056/nejmoa2021436.
  42. Deftereos, S. G., Siasos G., Giannopoulos G. et al. The Greek study in the effects of colchicine in COVID-19 complications prevention (GRECCO-19 study): Ra-

- tionale and study design. *Hell. J. Cardiol.* 61(1), 42-45, 2020. doi:10.1016/j.hjc.2020.03.002.
43. Colchicine Coronavirus SARS-CoV2 Trial (COLCORONA) - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04322682>.
44. Relief Therapeutics and NeuroRx Release Data Showing Efficacy of Aviptadil in Patients with COVID-19 and Respiratory Failure. <https://www.trialsitenews.com/relief-therapeutics-and-neurorx-release-data-showing-efficacy-of-aviptadil-in-patients-with-covid-19-and-respiratory-failure/>.
45. Intravenous Aviptadil for Critical COVID-19 With Respiratory Failure - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04311697>.
46. Inhaled Aviptadil for the Prevention of COVID-19 Related ARDS - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04536350>.
47. Martineau, A. R., Jolliffe, D.A., Richard L, Hooper, R.L. et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: Systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ* 356, 2017.
48. Helming, L., Böse, J., Ehrchen, J. et al. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 is a potent suppressor of interferon  $\gamma$ -mediated macrophage activation. *Blood* 106, 4351-4358, 2005.
49. Ilie, P. C., Stefanescu, S., Smith, L. The role of Vitamin D in the prevention of Coronavirus Disease 2019 infection and mortality CURRENT STATUS: POSTED. *Aging Clin. Exp. Res* 32(7),1195-1198, 2019. doi: 10.1007/s40520-020-01570-8.
50. Evans, R. M., Lippman, S. M. Shining Light on the COVID-19 Pandemic: A Vitamin D Receptor Checkpoint in Defense of Unregulated Wound Healing. *Cell Metab.* 32, 704-709, 2020.
51. Laing, A. G., Lorenc A., del Molino del Barrio I. et al. A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. *Nat. Med.* 26, 1623-1635, 2020.
52. Kox, M., Waalders, N. J. B., Kooistra, E. J. et al. Cytokine levels in critically ill patients with COVID-19 and other conditions. *JAMA* 324(15),1565-1567, 2020. doi:10.1001/jama.2020.17052.
53. Warren, T.K., Jordan, R., Lo, M. et al. Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* 531, 381-385, 2016.
54. Eastman, R. T., Roth, J.S., Brimacombe, K. et al. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. *ACS Cent. Sci.* 6, 5, 672-683, 2020. doi:10.1021/acscentsci.0c00489.
55. Adaptive COVID-19 Treatment Trial (ACTT) - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04280705>.
56. Beigel, J. H., Tomashek, K. M., Dodd, L. E. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N. Engl. J. Med.* 383,1813-1826, 2020. doi:10.1056/nejmoa2007764.
57. Wang, Y. Zhang, D., Du, G. et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 395 (10236), 1569-1578, 2020.
58. FDA Approves First Treatment for COVID-19 | FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-treatment-covid-19>.
59. Solidarity Therapeutics Trial produces conclusive evidence on the effectiveness of repurposed drugs for COVID-19 in record time. <https://www.who.int/news/item/15-10-2020-solidarity-therapeutics-trial-produces-conclusive-evidence-on-the-effectiveness-of-repurposed-drugs-for-covid-19-in-record-time>.
60. Dyer, O. Covid-19: Remdesivir has little or no impact on survival, WHO trial shows. *BMJ* 371, m4057, 2020.
61. Baricitinib and remdesivir reduce time to recovery in COVID-19 patient trial. <https://www.europeanpharmaceuticalreview.com/news/128563/baricitinib-and-remdesivir-reduce-time-to-recovery-in-covid-19-patient-trial/>.
62. Furuta, Y., Takahashi, K., Kuno-Maekawa, M. et al. Mechanism of action of T-705 against influenza virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49, 981-986, 2005.
63. Cinatl, J., Michaelis, M., Hoever, G. et al. Develop-

- ment of antiviral therapy for severe acute respiratory syndrome. *Antiviral Res.* 66, 81–97, 2005.
64. De Clercq, E. New Nucleoside Analogues for the Treatment of Hemorrhagic Fever Virus Infections. *Chem. Asian J.* 14, 3962–3968, 2019.
  65. Cao, B. Wang Y, Wen, D. et al. A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 382, 1787–1799, 2020. doi:10.1056/NEJMoa2001282.
  66. Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Revokes Emergency Use Authorization for Chloroquine and Hydroxychloroquine | FDA. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-revokes-emergency-use-authorization-chloroquine-and>.
  67. Gordon, D. E., Jang, G.M, Bouhaddou, M. et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* 583, 459–468, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2286-9.
  68. Schrezenmeier, E. Dörner, T. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. *Nat. Rev. Rheumatol.* 16, 155–166, 2020.
  69. Mastaglio, S., Ruggeri, A., Risitano, A.M. et al. The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101. *Clin. Immunol.* 215, 108450, 2020.
  70. Chen, P., Nirula, A., Heller, B. et al. SARS-CoV-2 Neutralizing Antibody LY-CoV555 in Outpatients with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 1–9, 2020. doi:10.1056/nejmoa2029849.
  71. Lilly's neutralizing antibody bamlanivimab (LY-CoV555) receives FDA emergency use authorization for the treatment of recently diagnosed COVID-19 | Eli Lilly and Company. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lillys-neutralizing-antibody-bamlanivimab-ly-cov555-receives-fda>.
  72. Statement-NIH-Sponsored ACTIV-3 Trial Closes LY-CoV555 Sub-Study | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <https://www.niaid.nih.gov/news-events/statement-nih-sponsored-activ-3-trial-closes-ly-cov555-sub-study>.
  73. Lilly provides comprehensive update on progress of SARS-CoV-2 neutralizing antibody programs | Eli Lilly and Company. <https://investor.lilly.com/news-releases/news-release-details/lilly-provides-comprehensive-update-progress-sars-cov-2>.
  74. World's Leading Life Science Companies Now Enrolling COMMUNITY, A Global Platform Trial For Hospitalized Patients with COVID-19. <https://www.takeda.com/newsroom/news-releases/2020/worlds-leading-life-science-companies-now-enrolling-community-a-global-platform-trial-for-hospitalized-patients-with-covid-19/>.
  75. Krammer, F. SARS-CoV-2 vaccines in development. *Nature* 586, 516–527, 2020. doi:10.1038/s41586-020-2798-3.
  76. Thanh Le, T., Andreadakis, Z., Kumar A. et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat. Rev. Drug Discov.* 305–306, 2020. doi:10.1038/d41573-020-00073-5.
  77. Fidel, P. L., Noverr, M. C. Could an unrelated live attenuated vaccine serve as a preventive measure to dampen septic inflammation associated with covid-19 infection? *MBio* 11(3), e00907-20, 2020.
  78. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
  79. COVAX: Working for global equitable access to COVID-19 vaccines. <https://www.who.int/initiatives/act-accelerator/covax>.
  80. A Study to Evaluate Efficacy, Safety, and Immunogenicity of mRNA-1273 Vaccine in Adults Aged 18 Years and Older to Prevent COVID-19 - Full Text View - ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04470427>.
  81. Promising Interim Results from Clinical Trial of NIH-Moderna COVID-19 Vaccine | National Institutes of Health (NIH). [https://www.nih.gov/news-events/news-releases/promising-interim-results-clinical-trial-nih-moderna-covid-19-vaccine?fbclid=IwAR0NFfjKFM-reWKmP3jq\\_Zx4g-JS\\_HvWcP9emQWyaeeuWqXproXk0CgDzJd8#.X7J9R-70yZA](https://www.nih.gov/news-events/news-releases/promising-interim-results-clinical-trial-nih-moderna-covid-19-vaccine?fbclid=IwAR0NFfjKFM-reWKmP3jq_Zx4g-JS_HvWcP9emQWyaeeuWqXproXk0CgDzJd8#.X7J9R-70yZA).facebook.
  82. Promising Interim Results from Clinical Trial of NIH-Moderna COVID-19 Vaccine | National Institutes of Health (NIH).



83. Johnson & Johnson Initiates Pivotal Global Phase 3 Clinical Trial of Janssen's COVID-19 Vaccine Candidate | Johnson & Johnson. <https://www.jnj.com/johnson-johnson-initiates-pivotal-global-phase-3-clinical-trial-of-janssens-covid-19-vaccine-candidate>.
84. Novavax Initiates Phase 3 Efficacy Trial of COVID-19 Vaccine in the United Kingdom | Novavax Inc. - IR Site. <https://ir.novavax.com/news-releases/news-release-details/novavax-initiates-phase-3-efficacy-trial-covid-19-vaccine-unit-ed>.
85. Sanofi and Translate Bio mRNA COVID-19 vaccine candidate induced high antibody levels in preclinical studies - Sanofi. <https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2020/2020-10-15-14-00-00>.
86. Sanofi and GSK initiate Phase 1/2 clinical trial of COVID-19 adjuvanted recombinant protein-based vaccine candidate - Sanofi. <https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2020/2020-09-03-07-00-00>.
87. Folegatti, P. M., Ewer, K.J., Aley, P.K. et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 396, 467–478, 2020.
88. COVID-19 | BioNTech. <https://biontech.de/covid-19>.
89. Pfizer and BioNTech Announce Vaccine Candidate Against COVID-19 Achieved Success in First Interim Analysis from Phase 3 Study | Pfizer. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-announce-vaccine-candidate-against>.
90. Pfizer and BioNTech Conclude Phase 3 Study of COVID-19 Vaccine Candidate, Meeting All Primary Efficacy Endpoints | Pfizer. <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-conclude-phase-3-study-covid-19-vaccine>.
91. Balakrishnan, V. S. The arrival of Sputnik V. *Lancet Infect. Dis.* 20, 1128, 2020.
92. Logunov, D. Y. et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet* 396, 887–897, 2020.
93. Second interim analysis of clinical trial data showed a 91.4% efficacy for the Sputnik V vaccine on day 28 after the first dose; vaccine efficacy is over 95% 42 days after the first dose | Official website vaccine against COVID-19 Sputnik V. <https://sputnikvaccine.com/newsroom/press-releases/second-interim-analysis-of-clinical-trial-data-showed-a-91-4-efficacy-for-the-sputnik-v-vaccine-on-d/>.
94. The Lancet. COVID-19 vaccines: no time for complacency. *Lancet* (London, England) 396, 1607, 2020.
95. Krause, P., Fleming, T.R., Longini, I. et al. COVID-19 vaccine trials should seek worthwhile efficacy. *Lancet* 396, 741–743, 2020.
96. COVID-19 Vaccination Program Interim Operational Guidance for Jurisdictions Centers for Disease Control and Prevention (CDC) COVID-19 Vaccination Program Interim Playbook for Jurisdiction Operations. 2020.
97. ΕΟΔΥ, 2020. Οδηγίες για την εργαστηριακή διερεύνηση για το νέο κορωνοϊό SARS-CoV-2 <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2020/03/covid-19-ergastiriaki-diagnosi.pdf>.
98. Abbasi, J. The Promise and Peril of Antibody Testing for COVID-19. *JAMA* 323, 1881–1883, 2020.
99. CDC's Diagnostic Test for COVID-19 Only and Supplies | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/virus-requests.html>.
100. Using Antibody Tests for COVID-19 | CDC. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests.html>.

# Προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών για την ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών και την πρόληψη της μικροβιακής αντοχής

Άννα Μαρία Λάβη<sup>1</sup>, Σοφία Μαρκαντώνη-Κυρούδη<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής και Φαρμακοκινητικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, Ζωγράφου 157 84, Αθήνα

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:**  
αντιμικροβιακά;  
μικροβιακή αντοχή;  
προγράμματα  
διαχείρισης;  
αντιμικροβιακή χρήση;  
παρεμβάσεις

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πρόβλημα της μικροβιακής αντοχής αυξάνεται παγκοσμίως. Η ακατάλληλη χρήση αντιβιοτικών έχει συνδεθεί με την εμφάνιση μικροβιακής αντοχής και άλλων δυσμενών επιπτώσεων. Με την επιβράδυνση της ανακάλυψης νέων αντιμικροβιακών ενώσεων κρίνεται επιτακτική η ανάγκη διαφύλαξης των υπαρχόντων αντιβιοτικών. Με την ορολογία «διαχείριση των αντιβιοτικών» περιγράφονται οι συντονισμένες παρεμβάσεις με σκοπό την ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών, προωθώντας την επιλογή του βέλτιστου αντιμικροβιακού σχήματος, δόσης, διάρκειας θεραπείας και οδού χορήγησης, ώστε να επιτευχθεί η βέλτιστη έκβαση της λοίμωξης με ελαχιστοποίηση της τοξικότητας, μείωση του κόστους και περιορισμό της αντοχής των μικροβίων. Για το σκοπό αυτό έχουν δημιουργηθεί τα προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών με τη διεθνή ονομασία Antimicrobial Stewardship Programs (ASP) που πλαισιώνονται από διάφορες στρατηγικές με αυτές των προγραμμάτων “προηγούμενης έγκρισης” και “ανασκόπησης μετά τη συνταγογράφηση και ανατροφοδότησης” να κυριαρχούν μεταξύ άλλων. Οι παρεμβάσεις που πραγματοποιούνται από τις ASP ομάδες έχουν βραχυπρόθεσμο και μακρυπρόθεσμο αντίκτυπο ως προς τη μείωση της κατανάλωσης των αντιβιοτικών, της μικροβιακής αντοχής, της διάρκειας νοσηλείας, της συχνότητας εμφάνισης νοσοκομειακών λοιμώξεων, της θνητότητας, των ανεπιθύμητων ενεργειών αλλά και των ιατρικών δαπανών. Οι συντονισμένες προσπάθειες παρακολουθούνται με προκαθορισμένους δείκτες αξιολόγησης ώστε να απεικονίζεται η αξία και η βιωσιμότητα ενός τέτοιου προγράμματος. Η Ελλάδα συγκαταλέγεται στις ευρωπαϊκές χώρες με τα υψηλότερα επίπεδα μικροβιακής αντοχής καθώς και στις χώρες με την υψηλότερη κατανάλωση αντιβιοτικών τόσο στην κοινότητα όσο και στο νοσοκομειακό χώρο. Ιδιαίτερα λοιπόν για τη χώρα μας, που είναι ενδημική σε συγκεκριμένα παθογόνα για τα οποία οι θεραπευτικές επιλογές συνεχώς περιορίζονται, η εφαρμογή προγραμμάτων διαχείρισης αντιβιοτικών στο νοσοκομειακό περιβάλλον είναι κρίσιμης σημασίας μέτρο για την ασφάλεια και επιβίωση των ασθενών.

\* ΣΥΓΓΡΑΦΕΑΣ

ΑΛΛΗΛΟΓΡΑΦΙΑΣ:

Σοφία Μαρκαντώνη-Κυρούδη,  
kyroudi@pharm.uoa.gr

## 1. Εισαγωγή

Σήμερα, η υγειονομική περίθαλψη δοκιμάζεται τόσο από τους ταχείς ρυθμούς εξέλιξης της μικροβιακής αντοχής, όσο και από το μικρό αριθμό των νέων αντιμικροβιακών κατά των πολυανθεκτικών βακτηρίων.<sup>1</sup> Η ανακάλυψη νέων αντιμικροβιακών δε σταμάτησε στο πέρασμα του χρόνου, απλά έγινε ιδιαίτερα δυσχερής και αργή σε σχέση με την εξέλιξη της αντοχής των μικροβίων. Η έρευνα στην ανακάλυψη νέων αντιμικροβιακών προχωράει συνεχώς με ανακαλύψεις νέων ουσιών κυρίως, όμως στις ήδη υφιστάμενες τάξεις αντιμικροβιακών. Το πρόβλημα που ανακύπτει είναι ότι η ανακάλυψη των νέων ουσιών στις υπάρχουσες κατηγορίες ελλοχεύει τον κίνδυνο της μειωμένης δραστηριότητας, λόγω της ήδη αναπτυγμένης αντοχής στους προκατόχους αυτών των ουσιών ή λόγω διασταυρούμενης αντοχής μεταξύ των τάξεων των αντιμικροβιακών. Εφόσον η ανάπτυξη νέων κατηγοριών αντιβιοτικών επιβραδύνθηκε στο πρόσφατο παρελθόν και δεν αναμένεται να αλλάξει στο εγγύς μέλλον, είναι επιτακτική ανάγκη να διατηρηθεί η αποτελεσματικότητα των υπαρχόντων αντιβιοτικών.<sup>2</sup>

Για την αντιμετώπιση της απειλής της μικροβιακής αντοχής, αναπτύχθηκαν Προγράμματα Διαχείρισης Αντιβιοτικών στα νοσοκομεία με τη διεθνή ονομασία «Antimicrobial Stewardship Programs (ASPs)» για την προώθηση της ορθολογικής χρήσης των αντιβιοτικών και την παράταση της αποτελεσματικότητας των διαθέσιμων αντιβιοτικών. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) έχει ορίσει τη βέλτιστη συνταγογράφηση ως «την οικονομικά αποδοτική χρήση αντιμικροβιακών που μεγιστοποιεί το κλινικό θεραπευτικό τους αποτέλεσμα, ενώ ταυτόχρονα ελαχιστοποιεί τόσο τη φαρμακοεπαγόμενη τοξικότητα όσο και την ανάπτυξη μικροβιακής αντοχής».<sup>3</sup> Δεδομένου ότι η μη κατάλληλη χρήση αντιμικροβιακών παραγόντων επάγει την πίεση επιλογής για την ανάπτυξη αντοχής στα αντιβιοτικά, η καλύτερη στρατηγική για την καταπολέμηση της εξάπλωσης της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι η χρήση των διαθέσιμων αντιμικροβιακών ουσιών πιο προσεκτικά και ορθολογικά.

## 2. Εμφάνιση της μικροβιακής αντοχής

Η ιστορία έχει δείξει ότι μετά την εισαγωγή νέων

φαρμακευτικών ενώσεων στη θεραπευτική, ακολουθεί η ανάπτυξη και η διάδοση της αντοχής. Ο επιπολασμός της μικροβιακής αντοχής αυξάνεται παγκοσμίως. Σήμερα αντιμετωπίζουμε τις τρομερές συνέπειες των ανθεκτικών παθογόνων μικροοργανισμών, που είναι σε θέση να επιβιώσουν από όλα τα γνωστά αντιβιοτικά. Αυτό μπορεί εν μέρει να αποδοθεί σε δεκαετίες ανεξέλεγκτης κατανάλωσης αντιβιοτικών σε όλα τα οικοσυστήματα, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, των ζώων, της υδατοκαλλιέργειας και της γεωργίας, αλλά και στο γεγονός ότι η εξέλιξη και η επιλογή αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της διαδικασίας αυτής.<sup>4</sup>

Η ανάπτυξη αντοχής σε πολλά ανθρώπινα παθογόνα βρίσκεται σε μια πρωτοφανή κλίμακα, καθώς έχει εξελιχθεί σε ανθεκτικότητα σε πολλαπλά φάρμακα (MDR – Multi Drug Resistance).<sup>5</sup> Ειδικά τα βακτηριακά στελέχη που ανήκουν στην ομάδα των παθογόνων ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Enterobacter spp.*) είναι σημαντικά για αυτήν την «πανδημία».<sup>6</sup> Αυτά τα στελέχη MDR αυξάνονται με ανησυχητικό ρυθμό τις τελευταίες δεκαετίες, καθιστώντας δυσκολότερη, μερικές φορές αδύνατη, τη θεραπεία κοινών βακτηριακών λοιμώξεων με συμβατικά αντιβιοτικά.

Ο ΠΟΥ έχει αναγνωρίσει τη μικροβιακή αντοχή ως αυξανόμενη παγκόσμια απειλή για την υγεία και καλεί τη διεθνή κοινότητα να λάβει μέτρα για τη μείωση της εμφάνισης και της εξάπλωσής της.<sup>7</sup> Το Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων των Ηνωμένων Πολιτειών (Centers for Disease Control and Prevention of the United States - CDC) έχει κατηγοριοποιήσει τα βακτήρια στις εξής κατηγορίες: επείγοντα (urgent), σοβαρά (serious), ανησυχητικά (concerning) και υπό παρακολούθηση (watch list) (Πίνακας 1).<sup>4</sup>

Το CDC ορίζει τέσσερις βασικές δράσεις που θα βοηθήσουν στην καταπολέμηση των θανατηφόρων λοιμώξεων:<sup>4</sup>

1. Πρόληψη λοιμώξεων και πρόληψη της εξάπλωσης της αντοχής (ανοσοποίηση, ασφαλής παρασκευή τροφίμων, πλύσιμο χεριών και χρήση αντιμικροβιακών σύμφωνα με τις οδηγίες και μόνο όταν είναι απαραίτητο)

**Πίνακας 1: Κατηγοριοποίηση βακτηρίων βάσει κινδύνου από το CDC**

| Type of threat                          | Pathogen                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Urgent threats – Επείγουσα απειλή       | Carbapenem-resistant <i>Acinetobacter</i><br><i>Candida auris</i><br><i>Clostridioides difficile</i><br>Carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i><br>Drug-resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Serious threats – Σοβαρή απειλή         | Drug-resistant <i>Campylobacter</i><br>Drug-resistant <i>Candida</i><br>ESBL-producing <i>Enterobacteriaceae</i><br>Vancomycin-resistant <i>Enterococci</i><br>Multidrug-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>Drug-resistant nontyphoidal <i>Salmonella</i><br>Drug-resistant <i>Salmonella</i> serotype Typhi<br>Drug-resistant <i>Shigella</i><br>Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i><br>Drug-resistant <i>Streptococcus pneumoniae</i><br>Drug-resistant Tuberculosis |
| Concerning threats – Ανησυχητική απειλή | Erythromycin-resistant group A <i>Streptococcus</i><br>Clindamycin-resistant group B <i>Streptococcus</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Watch list – Λίστα επιτήρησης           | Azole-resistant <i>Aspergillus fumigatus</i><br>Drug-resistant <i>Mycoplasma genitalium</i><br>Drug-resistant <i>Bordetella pertussis</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

2. Παρακολούθηση και χαρτογράφηση των ανθεκτικών βακτηρίων

3. Βελτίωση της χρήσης των υπαρχόντων αντιμικροβιακών

4. Προώθηση ανάπτυξης νέων αντιμικροβιακών και ανάπτυξη νέων διαγνωστικών εξετάσεων για τον εντοπισμό των ανθεκτικών βακτηρίων

Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο έχει εγκρίνει ένα μη νομοθετικό ψήφισμα σχετικά με τη μικροβιακή αντοχή, στο οποίο τονίζει ότι η αντοχή στα αντιμικροβιακά αποτελεί ένα τεράστιο ζήτημα 8 και έχει θεσμοθετήσει τα συστήματα επιτήρησης για την παρακολούθηση της αντίστασης στα αντιμικροβιακά (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network – EARS Network) και της κατανάλωσης αντιμικροβιακών ουσιών (European Surveillance of Antimicrobial Consumption – ESAC). Τα συστήματα

αυτά παρέχουν πληροφορίες και δεδομένα για την υποστήριξη της πρόληψης και του ελέγχου της μικροβιακής αντοχής. Αν και τα επίπεδα ανθεκτικότητας σε Gram – θετικά παθογόνα (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* και *Enterococcus faecalis*) τείνουν να σταθεροποιηθούν ή και να μειωθούν σε πολλές χώρες, υπάρχει μια γενική αύξηση στην Ευρώπη της μικροβιακής αντοχής στα Gram – αρνητικά παθογόνα (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και *Pseudomonas aeruginosa*).<sup>9</sup>

Η Ελλάδα αντιμετωπίζει υψηλά επίπεδα μικροβιακής αντοχής, που συνδέονται κυρίως με νοσοκομειακές λοιμώξεις που προκαλούνται από συγκεκριμένους Gram – αρνητικούς παθογόνους οργανισμούς, κυρίως *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Klebsiella pneumoniae*. Η συχνότητα εμφάνισης Gram – θετικών βακτηριακών λοιμώξεων είναι σχε-



**Πίνακας 2: Ποσοστά αντοχής σε αντιπροσωπευτικά Gram (-) νοσοκομειακά στελέχη πολυανθεκτικά σε αντιβιοτικά από δεδομένα του WHONET Greece για την περίοδο 1ος-6ος 2019**

| Pathogen                       | Ward                                                      | AMK            | CAZ            | CIP            | SAM            | FEP            | IPM            | TZP            | FOX            | TOB            |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Medical Wards<br>(Νοσοκομειακές Κλινικές)<br>ICU<br>(ΜΕΘ) | 78.5%<br>91.9% | 90.8%<br>96.9% | 89.5%<br>98.8% | 65.4%<br>78.7% | 92.1%<br>96.3% | 88.2%<br>98.5% | 87.6%<br>95.4% | -<br>-         | -<br>-         |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>   | Medical Wards<br>ICU                                      | -<br>-         | 52.7%<br>77.3% | 57.8%<br>77.6% | -<br>-         | 55.7%<br>73.2% | 46.5%<br>73.7% | 48.3%<br>76.1% | 41.3%<br>67.4% | 40.2%<br>59.9% |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | Medical Wards<br>ICU                                      | 19.2%<br>31.8% | 17.8%<br>30.3% | 30.9%<br>41.0% | -<br>-         | -<br>-         | 27.4%<br>48.6% | 20.2%<br>33.3% | -<br>-         | -<br>-         |
| <i>Escherichia coli</i>        | Medical Wards<br>ICU                                      |                | 12.6%<br>15.4% | 29.7%<br>26.4% | -<br>-         | -<br>-         | -<br>-         | 4.5%<br>8.6%   | 4.0%<br>1.9%   | -<br>-         |
| <i>Enterobacter spp</i>        | Medical Wards<br>ICU                                      | -<br>-         | 31.9%<br>43.6% | 17.1%<br>42.7% | -<br>-         | 11.1%<br>46.4% | 7.3%<br>22.8%  | -<br>-         | -<br>-         | 8.9%<br>-      |
| <i>Proteus mirabilis</i>       | Medical Wards<br>ICU                                      | -<br>-         | 11.3%<br>20.0% | 41.2%<br>33.8% | -<br>-         | 4.3%<br>14.9%  | -<br>-         | 4.2%<br>5.2%   | 10.4%<br>20.0% | 13.3%<br>35.6% |

Συντομογραφίες: ICU: Intensive Care Unit (ΜΕΘ: Μονάδα Εντατικής Θεραπείας), AMK: Αμικασίνη, CAZ: Κεφταζιδίμη, CIP: Σιπροφλοξασίνη, SAM: Αμικικιλίνη / Σουλπακτάμη, FEP: Κεφεπίμη, IPM: Ιμιπενέμη, TZP: Πιπερακιλλίνη / Ταζομπακτάμη, FOX: Κεφοξιτίνη, TOB: Τομπραμυκίνη, NAL: Ναλιδικό οξύ

τικά χαμηλή βάσει στοιχείων από την European Point Prevalence Survey of HAIs and Antimicrobial Use 2012 (HAIs – Healthcare-Associated Infections).<sup>10</sup> Το Ελληνικό Σύστημα Επιτήρησης της Μικροβιακής Αντοχής (WHONET Greece) είναι ένα εθνικό δίκτυο για τη συνεχή παρακολούθηση της βακτηριακής αντοχής στα αντιβιοτικά στα ελληνικά νοσοκομεία.<sup>11</sup> Η λειτουργία του βασίζεται στην υπόθεση ότι τα συνήθη αποτελέσματα των δοκιμών ευαισθησίας στα αντιβιοτικά που εκτελούνται καθημερινά στα μικροβιολογικά εργαστήρια των νοσοκομείων θεωρούνται ως βασική πηγή για την παρακολούθηση της αντοχής στα αντιβιοτικά. Το WHONET Greece συμμετέχει στο ευρωπαϊκό δίκτυο

EARS-Net. Το EARS-Net εκτελεί επιτήρηση της αντιμικροβιακής ευαισθησίας επτά βακτηριακών παθογόνων που συνήθως προκαλούν λοιμώξεις στους ανθρώπους: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter species*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Οι Πίνακες 2 και 3 κατασκευάστηκαν για να συμπεριλάβουν τα πιο πρόσφατα αθροιστικά αποτελέσματα της αντοχής νοσοκομειακών στελεχών σε επιλεγμένα αντιβιοτικά σε όλα τα βιολογικά υγρά για το διάστημα Ιανουάριος – Ιούνιος 2019 από το WHONET Greece, με στόχο να δώσουν μια εικόνα της παρούσας κατάστασης της μικροβια-

**Πίνακας 3: Ποσοστά αντοχής σε αντιπροσωπευτικά Gram (+) νοσοκομειακά στελέχη πολυανθεκτικά σε αντιβιοτικά από δεδομένα του WHONET Greece για την περίοδο 1ος-6ος 2019**

| Pathogen                     | Hospital                                               | MET          | MET & GEN    | GEN            | SPT            | VAN            |
|------------------------------|--------------------------------------------------------|--------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Medical Wards<br>(Νοσοκομειακές Κλινικές)<br>ICU (ΜΕΘ) | 38%<br>34.8% | 2.5%<br>1.0% | -<br>-         | -<br>-         | -<br>-         |
| <i>Enterococcus spp</i>      | Medical Wards<br>ICU                                   | -<br>-       | -<br>-       | 19.3%<br>17.6% | 12.9%<br>14.7% | 12.7%<br>19.4% |

Συντομογραφίες: ICU: Intensive Care Unit (ΜΕΘ: Μονάδα Εντατικής Θεραπείας), MET: Μεθικιλίνη, GEN: Γενταμικίνη, SPT: Στρεπτομυκίνη, VAN: Βανκομυκίνη

κής αντοχής στα ελληνικά νοσοκομεία.

### 3. Ανάπτυξη των Προγραμμάτων Διαχείρισης Αντιβιοτικών

Ενώ η «Διαχείριση των Αντιβιοτικών» δεν είχε οριστεί με τη σημερινή της έννοια μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1990, τα νοσοκομειακά ιδρύματα είχαν ήδη αρχίσει από παλαιότερα να δημιουργούν κάποια πρωτόκολλα αναφορικά με τη χρήση των αντιμικροβιακών για την ενθάρρυνση της ορθολογικής τους χρήσης. Στα νοσοκομεία, το πρόγραμμα διαχείρισης αντιβιοτικών (ASP) ως μέσο για την επίτευξη της βέλτιστης συνταγογράφησης έχει γίνει ευρέως αποδεκτό τα τελευταία χρόνια από τους παγκόσμιους φορείς υγείας.<sup>12</sup> Η διαχείριση αντιβιοτικών συνίσταται από συστηματικές μετρήσεις και συντονισμένες παρεμβάσεις που αποσκοπούν στην προώθηση της βέλτιστης χρήσης αντιμικροβιακών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένης της επιλογής τους, της δοσολογίας, της οδού και της διάρκειας χορήγησής τους.<sup>13</sup> Ο πρωταρχικός στόχος ενός προγράμματος ASP είναι η βελτιστοποίηση των κλινικών αποτελεσμάτων με ταυτόχρονη ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων συνεπειών της χρήσης αντιμικροβιακών ουσιών, όπως η ανάπτυξη αντοχής και τοξικότητας.<sup>3</sup> Οι δευτερεύοντες στόχοι περιλαμβάνουν

τη μείωση των δαπανών για την υγειονομική περίθαλψη, χωρίς να επηρεάζουν δυσμενώς τη φροντίδα των ασθενών.<sup>12</sup> Τα προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο στις πολύπλερες προσπάθειες για τον έλεγχο της εμφάνισης και της εξάπλωσης της αντοχής στα αντιβιοτικά.

Αν και δεν υπάρχει εθνική νομοθεσία ή κεντρικός έλεγχος για τη διαχείριση των αντιβιοτικών, υπάρχουν κοινές κατευθυντήριες γραμμές για να βοηθήσουν στην πρόληψη του αυξανόμενου προβλήματος της αντοχής, τονίζοντας τη σημασία εφαρμογής προγραμμάτων διαχείρισης των αντιβιοτικών.<sup>13</sup> Οι κατευθυντήριες γραμμές για την εφαρμογή ενός ASP είναι επί του παρόντος διαθέσιμες από τους επίσημους επισημοποιημένους φορείς:

- American Hospital Association (AHA)<sup>14</sup>
- European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID)<sup>15</sup>
- Infectious Diseases Society of America (IDSA) / Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)<sup>13, 16</sup>

### 4. Στρατηγικές των προγραμμάτων διαχείρισης αντιβιοτικών

Τα αποτελεσματικά ASP μπορεί να περιλαμβάνουν

έναν αριθμό ενεργών και συμπληρωματικών στρατηγικών, με πολλά προγράμματα να υιοθετούν υβριδικές στρατηγικές, καθώς η αυστηρή ταξινόμηση και τήρησή τους δεν είναι πάντοτε δυνατή.<sup>17</sup>

Στις ενεργές στρατηγικές περιλαμβάνονται τα προγράμματα προηγούμενης έγκρισης (Prior Approval Programs) και τα προγράμματα ανασκόπησης και ανατροφοδότησης μετά από προηγούμενη έγκριση (Post – prescription Review Programs). Η στρατηγική των προγραμμάτων προηγούμενης έγκρισης είναι να περιορίσει τη χρήση ορισμένων αντιμικροβιακών ουσιών στις εγκεκριμένες ενδείξεις. Η ομάδα πρωτοβάθμιας φροντίδας (θεράποντες ιατροί, λοιμωξιολόγοι, φαρμακοποιοί) είναι υπεύθυνη για την εφαρμογή της διαδικασίας έγκρισης, πριν από τη χορήγηση των υπό περιορισμό αντιμικροβιακών. Τα υπό περιορισμό αντιβιοτικά δε χορηγούνται χωρίς την έγκριση της ομάδας ASP. Αυτή η προσέγγιση δίνει τη δυνατότητα βελτιστοποίησης της αρχικής επιλογής αντιμικροβιακής αγωγής και μπορεί να οδηγήσει σε άμεση και σημαντική μείωση της χρήσης αντιμικροβιακών.<sup>12</sup> Όσον αφορά τη δεύτερη ενεργή στρατηγική, η ανασκόπηση μετά τη συνταγογράφηση και ανατροφοδότηση συνήθως συμβαίνει εντός 48 – 72 ωρών από την έναρξη της εμπειρικής αντιμικροβιακής αγωγής και τη διάθεση πρόσθετων μικροβιολογικών και κλινικών δεδομένων, με τα μέλη της ομάδας ASP να παρέχουν προφορικές ή γραπτές συστάσεις στους γιατρούς σχετικά με τη βελτιστοποίηση της χρήσης αντιμικροβιακών. Η στρατηγική αυτή μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της ακατάλληλης χρήσης των αντιμικροβιακών.<sup>12</sup> Μερικές φορές μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί νωρίτερα (εντός 24 ωρών) για να αντικαταστήσει το συχνά περίπλοκο σύστημα του προγράμματος προηγούμενης έγκρισης. Ο συνδυασμός προηγούμενης έγκρισης – ανασκόπησης μετά τη συνταγογράφηση και ανατροφοδότησης μπορεί να διασφαλίσει την κατάλληλη επιλογή φαρμακοθεραπείας.<sup>18</sup> Η παρέμβαση δεν καθυστερεί την πρώτη δόση αντιμικροβιακής αγωγής και η αποδοχή των συστάσεων είναι εθελοντική.

Στις συμπληρωματικές στρατηγικές που δύνανται να πλαισιώσουν ένα Πρόγραμμα Διαχείρισης Αντιβιοτικών περιλαμβάνονται τα εξής: Antibiotic Cycling, Εκπαίδευση, Κατευθυντήριες οδηγίες και τα Υπολογιστικά Προγράμματα. Το Antibiotic Cycling χρησιμοποιεί

την προγραμματισμένη περιστροφή αντιμικροβιακών ουσιών από διαφορετικές τάξεις, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πίεση επιλογής που ασκείται από μεμονωμένα αντιβιοτικά.<sup>12</sup> Τα περισσότερα ιδρύματα δε χρησιμοποιούν αυτή τη στρατηγική, επειδή η συμμόρφωση είναι σχετικά μικρή λόγω προβληματισμών των θεράποντων ιατρών σχετικά με τις ανεπιθύμητες ενέργειες<sup>18</sup> και την πεποίθηση ότι πρόκειται για ένα αδύναμο μέσο μείωσης των ποσοστών αντοχής στα αντιβιοτικά.<sup>12</sup> Η εκπαίδευση είναι επίσης ένα σημαντικό στοιχείο οποιουδήποτε ASP και μπορεί να περιλαμβάνει διδασκαλίες, διατάξεις γραπτών κατευθυντήριων γραμμών, ηλεκτρονική εκμάθηση κλπ., για να τεθούν οι θεμέλιες γνώσεις που απαιτούνται για να βελτιωθεί η συνταγογράφηση. Ωστόσο, η επιτυχία της εκπαίδευσης εξαρτάται από τα κίνητρα των κλινικών ιατρών και από μόνη της είναι ελάχιστα αποτελεσματική στην αλλαγή πρακτικών συνταγογράφησης αντιμικροβιακών.<sup>12</sup> Οι κατευθυντήριες οδηγίες μπορούν να οδηγήσουν σε βελτιωμένη χρήση αντιμικροβιακών, με την προϋπόθεση ενσωμάτωσης της τοπικής επιδημιολογίας των προτύπων ευαισθησίας των αντιβιοτικών, για να πραγματοποιηθεί η επιλογή του κατάλληλου αντιμικροβιακού και στη σωστή δοσολογία.<sup>12</sup> Ορισμένα εργαλεία, όπως τα προγράμματα με τη βοήθεια υπολογιστή, όταν χρησιμοποιούνται ως μέρος ενός ολοκληρωμένου ASP προγράμματος, μπορεί να μειώσουν τη χρήση αντιβιοτικών, να περιορίσουν τα σφάλματα στη δοσολογία και στη διάρκεια χορήγησης, να εντοπίσουν πιο εύκολα τις φαρμακοεπαγόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες και να εντοπίσουν εγκαίρως τις νοσοκομειακές λοιμώξεις.<sup>12</sup> Άλλες στρατηγικές που θα μπορούσαν να ενσωματωθούν σ' ένα πρόγραμμα διαχείρισης αντιβιοτικών περιλαμβάνουν τη βελτιστοποίηση δοσολογίας με χρήση φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών αρχών<sup>19</sup> και την κατά περίπτωση μετάβαση από παρεντερική σε από του στόματος θεραπεία με υψηλή βιοδιαθεσιμότητα.<sup>20</sup>

## 5. Εφαρμογή ενός προγράμματος διαχείρισης αντιβιοτικών

Για την αποτελεσματική εφαρμογή ενός προγράμματος διαχείρισης αντιβιοτικών πρέπει να τηρούνται οι γενικές αρχές βέλτιστης χρήσης των αντιμικροβι-

ακών. Στο πλαίσιο αυτών των πρωτοκόλλων, η ομάδα διαχείρισης αντιβιοτικών μπορεί να επισημάνει την κατάλληλη εμπειρική αγωγή, να ενισχύσει την αποκλιμάκωση των αντιμικροβιακών με βάση τα κλινικά και μικροβιολογικά δεδομένα, να ενθαρρύνει τη μετάβαση από την ενδοφλέβια στην από του στόματος θεραπεία, να συστήσει την κατάλληλη διάρκεια θεραπείας, να παρακολουθεί τις απαιτούμενες φαρμακοκινητικές παραμέτρους και να αξιολογήσει τις αναφερόμενες αλλεργίες.<sup>21</sup>

### 5.1 Έναρξη εμπειρικής θεραπείας

Η έναρξη εμπειρικής αντιμικροβιακής θεραπείας αποτελείται από τα ακόλουθα:

- Επιλογή του βέλτιστου αντιμικροβιακού σχήματος (μετά τη λήψη δείγματος για καλλιέργεια), λαμβάνοντας υπόψη: i) τη σοβαρότητα και την πορεία της ασθένειας, ii) τα πιθανά παθογόνα και την ανατομική τους πηγή, iii) την πιθανότητα αντοχής στα αντιβιοτικά και iv) παράγοντες που μπορούν να αποκλείσουν τη χρήση μιας συγκεκριμένης κατηγορίας αντιμικροβιακών ουσιών (π.χ. αλλεργία), που αυξάνουν τον κίνδυνο τοξικότητας (π.χ. οριακή ή ασταθής νεφρική λειτουργία) ή επηρεάζουν το φάσμα αντιμικροβιακής κάλυψης (π.χ. ανοσοκαταστολή)
- Προσδιορισμός της κατάλληλης δοσολογίας και της οδού χορήγησης (π.χ. ενδοφλέβια στην κρίσιμη κατάσταση)
- Έναρξη της αντιμικροβιακής θεραπείας όσο το δυνατόν πιο γρήγορα

### 5.2 Προσαρμογή της αντιμικροβιακής θεραπείας

Σε ασθενείς που λαμβάνουν εμπειρική αντιμικροβιακή αγωγή, το σχήμα θα πρέπει να επαναξιολογείται συνεχώς καθώς η κλινική κατάσταση εξελίσσεται και γίνονται διαθέσιμα τα μικροβιολογικά αποτελέσματα (συνήα μετά από 48 έως 72 ώρες). Σε αυτό το σημείο, η αντιμικροβιακή θεραπεία προσαρμόζεται από εμπειρική σε στοχευμένη. Το φάσμα της κάλυψης μπορεί να περιοριστεί ή να διευρυνθεί ανάλογα με την περίπτωση, η δόση μπορεί να προσαρμοστεί ανάλογα με τις ανάγκες και τα περιττά αντιμικροβιακά του σχήματος θα πρέ-

πει να εξαλειφθούν. Εάν η κλινική κατάσταση του ασθενούς δεν είναι αποτέλεσμα βακτηριακής λοίμωξης, τα αντιμικροβιακά πρέπει να διακοπούν εντελώς.

### 5.3 Μετάβαση από ενδοφλέβια σε από του στόματος χορήγηση αντιμικροβιακών

Τα αντιμικροβιακά σχήματα πρέπει να μετατραπούν από ενδοφλέβια σε χορήγηση από το στόμα, όσο το δυνατόν πιο σύντομα και αν αυτό είναι εφικτό. Το εκάστοτε πρόγραμμα διαχείρισης αντιβιοτικών μπορεί να αναπτύξει ένα πρωτόκολλο που καθορίζει τους κατάλληλους ασθενείς για αυτήν την παρέμβαση. Έχει αποδειχθεί ότι αυτή η παρέμβαση μειώνει τις επιπλοκές που σχετίζονται με την ενδοφλέβια οδό χορήγησης, χωρίς να διακυβεύει την κλινική έκβαση, διευκολύνει τα εξιτήρια και μειώνει το κόστος.<sup>22</sup>

### 5.4 Χρήση της συντομότερης αποτελεσματικής διάρκειας της θεραπείας

Ένα κρίσιμο στοιχείο για την ασφαλή χρήση των αντιμικροβιακών έγκειται στον περιορισμό της χορήγησης τους στην ελάχιστη διάρκεια που απαιτείται για τη μέγιστη αποτελεσματικότητα. Η κατάλληλη διάρκεια θεραπείας έχει μελετηθεί καλά για πολλές λοιμώξεις, όπως πνευμονία, σταφυλοκοκκικές λοιμώξεις, καντινταμία, περίπλοκες ενδοκοιλιακές λοιμώξεις και χειρουργική χημειοπροφύλαξη.<sup>23</sup> Η μέτρηση της προκαλσιτονίνης στον ορό έχει αποδειχθεί ότι παρέχει στον κλινικό ιατρό ένα βοηθητικό εργαλείο για τη διακοπή της αντιμικροβιακής αγωγής σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς.<sup>24</sup>

### 5.5 Φαρμακοκινητική παρακολούθηση

Η βέλτιστη δοσολογία και χορήγηση των αντιμικροβιακών απαιτούν τη συμμόρφωση με τις σχετικές αρχές φαρμακοκινητικής / φαρμακοδυναμικής. Η παρακολούθηση της φαρμακοκινητικής αυξάνει την πιθανότητα επίτευξης συγκεντρώσεων του αντιβιοτικού στον ορό εντός του θεραπευτικού εύρους και μειώνει το κόστος. Μερικές μελέτες έχουν επίσης δείξει μείωση στην εμφάνιση νεφροτοξικότητας, στη διάρκεια νοσηλείας και στη θνητότητα.<sup>25</sup>



### 5.6 Αξιολόγηση της αλλεργίας σε αντιβιοτικά

Η αλλεργία σε αντιβιοτικά μπορεί να περιπλέξει την επιλογή κατάλληλης αντιμικροβιακής θεραπείας και συνήθως σχετίζεται με αντιμικροβιακή αγωγή ευρύτερου φάσματος απ' ό,τι απαιτείται.<sup>26</sup> Ασθενείς με αναφερόμενη αλλεργία είναι σημαντικά πιο πιθανό να λάβουν αντιμικροβιακά φάρμακα ευρέος φάσματος και διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο λοίμωξης από *Clostridium difficile*, επιλοιώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη και μετεγχειρητικών λοιμώξεων, παρατεταμένη διάρκεια νοσηλείας, μεγαλύτερη πιθανότητα εισαγωγής σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) και υψηλότερα ποσοστά θανάτου από όσους δεν αναφέρουν κάποια αλλεργία.<sup>27</sup> Η συνεργασία με τους αλλεργιολόγους είναι επωφελής για την αξιολόγηση αλλεργιολογικών τεστ για τη βελτίωση της χρήσης αντιμικροβιακών πρώτης γραμμής.<sup>13,28</sup>

### 6. Επίδραση αποτελεσματικών προγραμμάτων διαχείρισης αντιβιοτικών

Υπάρχουν ουσιαστικά στοιχεία από μελέτες ανασκόπησης που δείχνουν ότι τα προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών μπορούν να οδηγήσουν σε πιο ορθολογική χρήση των αντιμικροβιακών και σε συνολική καλύτερη φροντίδα των ασθενών στο νοσοκομειακό περιβάλλον. Παρόλο που τα κλινικά αποτελέσματα ποικίλλουν μεταξύ προγραμμάτων, υπάρχουν θετικά οφέλη που συνδέονται με τα ASPs όσον αφορά την κατανάλωση αντιμικροβιακών, τις φαρμακοεπαγόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες, τα ποσοστά λοιμώξεων από *C. difficile* και τη μικροβιακή αντοχή.

#### 6.1 Κατανάλωση αντιβιοτικών

Συστηματικές ανασκοπήσεις<sup>29-31</sup> έχουν δείξει ότι τα προγράμματα ASP σχετίζονται με βελτιωμένες πρακτικές συνταγογράφησης αντιβιοτικών και μειωμένα ποσοστά κατανάλωσης συνολικά, εντός και εκτός της ΜΕΘ. Σε αρκετές μελέτες, διαπιστώθηκε ότι ενώ μειώθηκε η χρήση των προωθημένων αντιβιοτικών, αυξήθηκε η χρήση άλλων κατηγοριών αντιβιοτικών.<sup>32</sup> Η παρατηρούμενη συνολική μείωση στην κα-

τανάλωση των αντιβιοτικών συνοδεύεται από την επερχόμενη βελτίωση στις κλινικές εκβάσεις, όπως ο μειωμένος κίνδυνος λοίμωξης από *C. difficile* με ορισμένα φάρμακα (π.χ. φθοριοκινολόνες, κλινδαμυκίνη και αντιβιοτικά ευρέος φάσματος) και ο περιορισμός της παρατεταμένης χρονικά χρήσης των αντιβιοτικών.<sup>33</sup>

#### 6.2 Διάρκεια νοσηλείας, συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων και θνητότητα

Τα ASP αποσκοπούν στη βελτίωση των κλινικών παραμέτρων με επίκεντρο τον ασθενή, όπως η διάρκεια νοσηλείας, οι επανεισαγωγές στο νοσοκομείο και η συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων επαγόμενων από τη χρήση αντιβιοτικών κατά τη διάρκεια της νοσηλείας, ιδιαίτερα της λοίμωξης από *C. difficile*. Τα περισσότερα από τα αναθεωρημένα στοιχεία δείχνουν ότι δεν υπάρχει σημαντικό όφελος στη διάρκεια νοσηλείας κατόπιν των παρεμβάσεων από την ομάδα ASP<sup>31,32</sup> και μια μετα-ανάλυση σημείωσε ότι όταν η συνολική διάρκεια νοσηλείας ήταν σημαντικά μειωμένη, η διάρκεια παραμονής στη ΜΕΘ δεν ήταν.<sup>29</sup> Επίσης, δε φαίνεται να υπάρχει σημαντική μεταβολή του ποσοστού επανεισαγωγών στο νοσοκομείο.<sup>31,32</sup>

Συστηματικές ανασκοπήσεις και μετα-ανάλυσεις ειδικά σχεδιασμένες για την εκτίμηση της επίπτωσης των λοιμώξεων από *C. difficile* σε σχέση με τα προγράμματα ASP έδειξαν σημαντικά μειωμένο κίνδυνο λοίμωξης,<sup>31,34</sup> αποτελέσματα με τα οποία συμφωνούν τα δεδομένα που παρουσιάζονται από το CDC για τη συμβολή των ASP προγραμμάτων στις λοιμώξεις από *C. difficile*.<sup>35</sup> Εκτός από τη λοίμωξη από *C. difficile*, μία αναδρομική μελέτη παρατήρησης διαπίστωσε ότι το ποσοστό επιλοίμωξης εντός 14 ημερών (δηλ. η επαναμόλυνση από το ίδιο παθογόνο στην ίδια ανατομική θέση) μειώθηκε σημαντικά μετά από παρεμβάσεις των ASP προγραμμάτων.<sup>36</sup>

Όσον αφορά τη θνητότητα, οι περισσότερες μελέτες δε διαπιστώνουν σημαντική μείωση που σχετίζεται με τις παρεμβάσεις της ASP ομάδας.<sup>29,31,32</sup>

#### 6.3 Μικροβιακή αντοχή

Βασικός στόχος των προγραμμάτων ASP είναι η πρό-

ληψη της μικροβιακής αντοχής. Μια βιβλιογραφική ανασκόπηση διαπίστωσε ότι υπήρξαν μόνο μερικές μελέτες που ανέφεραν βραχυπρόθεσμη μείωση της μικροβιακής αντοχής και ακόμη λιγότερες για μακροχρόνια μείωση.<sup>18</sup> Απαιτούνται επιπλέον καλά σχεδιασμένες μελέτες μεγαλύτερης διάρκειας στο μέλλον που ασχολούνται με τη μακροπρόθεσμη επίδραση των ASP στη μικροβιακή αντοχή για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων της αντοχής.<sup>37</sup>

Αξιοσημείωτο είναι ένα φαινόμενο γνωστό ως «squeezing the balloon» («πιέζοντας το μπαλόνι»). Όταν ορισμένα αντιβιοτικά τίθενται υπό περιορισμό, η χρήση των υπολοίπων αντιβιοτικών μπορεί να αυξηθεί και πιθανώς να οδηγήσει σε αυξημένη αντοχή αυτών των μη περιορισμένων αντιβιοτικών.<sup>29</sup> Αυτό μπορεί να συσχετιστεί με τα προγράμματα ASP, ενδεχομένως οδηγώντας σε παράδοση αύξηση της αντοχής.<sup>38</sup> Υπάρχουν πολυάριθμες μελέτες που έχουν παρατηρήσει σημαντικές διαφορές στα ποσοστά κατανάλωσης και αντοχής σε διαφορετικές κατηγορίες αντιβιοτικών.<sup>32,39,40</sup>

#### 6.4 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Ως προς την τοξικότητα και τις ανεπιθύμητες ενέργειες αναμένεται να είναι μειωμένες με τη μειωμένη χρήση των αντιμικροβιακών. Μία συστηματική ανασκόπηση<sup>31</sup> εξέτασε τη συχνότητα των δυσμενών επιδράσεων που σχετίζονται με τη χρήση αντιβιοτικών και τα ευρήματά τους υποδηλώνουν τουλάχιστον ότι τα προγράμματα ASP δεν προκαλούν βλάβη, καθώς μόνο 2 από τις μελέτες που εξέτασαν, ανέφεραν ανεπιθύμητες ενέργειες. Σε επόμενη μελέτη ανασκόπησης με βάση 14 μελέτες φάνηκε ότι ο κίνδυνος νεφροτοξικότητας κατά τη διάρκεια της αντιμικροβιακής θεραπείας μειώθηκε ως αποτέλεσμα ASP παρεμβάσεων.<sup>41</sup> Είναι λογικά αναμενόμενο ότι η μειωμένη έκθεση στα αντιβιοτικά έχει ως αποτέλεσμα μειωμένες ανεπιθύμητες ενέργειες.

#### 6.5 Ιατρικές δαπάνες

Φαίνεται ότι τα αποτελεσματικά προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών μπορούν να μειώσουν τις ιατρικές δαπάνες και αυτή η εξοικονόμηση οικονο-

μικών πόρων που επιτυγχάνεται θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την υποστήριξη των ASP, καθιστώντας τα αυτοσυντηρούμενα.<sup>12</sup> Αν και το επέκντρο των ASP προγραμμάτων είναι συχνά η βελτίωση των κλινικών αποτελεσμάτων, τα οικονομικά αποτελέσματα είναι ένα σημαντικό συστατικό των ASP, καθώς αυτά τα προγράμματα έχουν οικονομική αξία και πρέπει να τονιστούν και να αναλυθούν περαιτέρω.<sup>29,42,43</sup> Δεδομένου ότι οι κλινικές εκβάσεις είναι συχνά ο κύριος στόχος των ASP, οι περισσότερες διαθέσιμες μελέτες έχουν αποτελέσει μελέτες κλινικών αποτελεσμάτων, και όχι οικονομικές αναλύσεις, στις οποίες οι οικονομικές αξιολογήσεις είναι συχνά δευτερεύουσες εκτιμήσεις, αν συμπεριληφθούν. Τα αποτελεσματικά ASP προγράμματα μειώνουν τις νοσοκομειακές δαπάνες περιορίζοντας τις νοσοκομειακές λοιμώξεις και το σχετικό ιατρικό κόστος και μειώνοντας την κατάχρηση αντιβιοτικών, τις ιατρογενείς λοιμώξεις και τα ποσοστά των ανθεκτικών στα αντιβιοτικά οργανισμών.<sup>29,42</sup> Εκτός από τις οικονομικές αξιολογήσεις, εξετάζονται και άλλα αποτελέσματα, συμπεριλαμβανομένης της διάρκειας νοσηλείας,<sup>29</sup> καθώς και έμμεσες δαπάνες, όπως η νοσηρότητα και η θνητότητα, τα κοινωνικά και τα λειτουργικά έξοδα.<sup>43</sup> Επί του παρόντος, δε διατίθενται τέτοιες λεπτομερείς αναλύσεις. Σε συνδυασμό με πιο τυποποιημένους κλινικούς δείκτες παρακολούθησης, αυτές οι αξιολογήσεις χρειάζονται για να οριοθετήσουν καλύτερα την πλήρη αποδοτικότητα κόστους των ASP.

#### 7. Δείκτες Προγράμματος Διαχείρισης Αντιβιοτικών

Οι βέλτιστοι δείκτες για την παρακολούθηση προγραμμάτων διαχείρισης είναι αβέβαιοι. Παραδοσιακά, τα προγράμματα επικεντρώνονται στην κατανάλωση αντιμικροβιακών και στην εξοικονόμηση κόστους.<sup>44,45</sup>

Η κατανάλωση αντιμικροβιακών μπορεί να εκτιμηθεί σε ημέρες θεραπείας (DOT – Days Of Therapy) ή σε καθορισμένη ημερήσια δόση (DDD – Daily Defined Dose), με τη χρήση του DOT να προτιμάται.<sup>13</sup> Το DOT είναι το συνολικό άθροισμα των ημερών για τις οποίες χορηγείται οποιαδήποτε ποσότητα συγκεκριμένου αντιμικροβιακού σε έναν συγκεκριμένο ασθενή

**Πίνακας 4: Δείκτες αξιολόγησης διαδικασιών και αποτελεσματικότητας**

| Δείκτες αξιολόγησης διαδικασιών                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Δείκτες αξιολόγησης αποτελεσματικότητας                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Συχνότητα λήψης καλλιεργειών από στείρα σημεία πριν την έναρξη της εμπειρικής αντιμικροβιακής θεραπείας</li> <li>• Συχνότητα τεκμηρίωσης της ένδειξης και της αναμενόμενης διάρκειας χορήγησης του αντιμικροβιακού</li> <li>• Ποσοστό εφαρμογής των εθνικών ή τοπικών κατευθυντήριων οδηγιών</li> <li>• Συχνότητα αποκλιμάκωσης της αντιμικροβιακής αγωγής μετά τη λήψη των μικροβιολογικών δεδομένων</li> <li>• Συχνότητα λανθασμένης επιλογής αντιμικροβιακού</li> <li>• Ποσοστό μετάβασης από ενδοφλέβια σε από του στόματος αντιμικροβιακή αγωγή</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Διάρκεια παραμονής στο νοσοκομείο</li> <li>• Θνητότητα εντός 30 ημερών (30-day mortality)</li> <li>• Μη προγραμματισμένη επανεισαγωγή εντός 30 ημερών</li> <li>• Ποσοστό ενδονοσοκομειακών λοιμώξεων από <i>C. difficile</i></li> <li>• Ποσοστό κλινικής / θεραπευτικής αποτυχίας (πχ. ανάγκη αντιμικροβιακής αγωγής ευρύτερου φάσματος, επανεμφάνιση λοίμωξης)</li> </ul> |

(αριθμητή) διαιρούμενο με έναν τυποποιημένο παρονομαστή και αναφέρεται στον αριθμό των ημερών στις οποίες ένας ασθενής λαμβάνει ένα αντιμικροβιακό, ανεξάρτητα από τη χορηγούμενη δόση. Το DDD συγκεντρώνει το συνολικό αριθμό γραμμαρίων κάθε αντιμικροβιακού που χορηγείται κατά τη διάρκεια μιας χρονικής περιόδου, διαιρούμενο με ένα πρότυπο DDD που ορίζεται από τον ΠΟΥ. Επειδή τα απαιτούμενα δεδομένα είναι συνήθως διαθέσιμα από το φαρμακείο, είναι σχετικά εύκολο να υπολογιστεί.<sup>13</sup>

Οι δείκτες αξιολόγησης διαδικασιών και οι δείκτες αξιολόγησης αποτελεσματικότητας περιλαμβάνουν την αξιολόγηση του τρόπου με τον οποίο χρησιμοποιούνται τα αντιμικροβιακά και τη χρησιμότητα των μέτρων αντιμικροβιακής επιτήρησης. Τα μέτρα αυτά αξιολογούν εάν μια παρέμβαση αλλάζει τη συμπεριφορά των συνταγογράφων και μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω ανασκόπησης των φακέλων των ασθενών. Η αξιολόγηση της αντιμικροβιακής επιτήρησης όσον αφορά τα προγράμματα προηγούμενης έγκρισης γίνεται βάσει προσήλωσης στο πρωτόκολλο, ενώ όσον αφορά τα προγράμματα ανασκόπησης μετά τη συνταγογράφηση και ανατροφοδότησης πραγματοποιείται μέσω του αριθμού των παρεμβάσεων και της αναλογίας συστάσεων που έγιναν δεκτές. Στον

**Πίνακα 4** παρατίθενται παραδείγματα αυτών των δεικτών αξιολόγησης.

## 8. Προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών στην Ελλάδα

Η χώρα μας συγκαταλέγεται στις ευρωπαϊκές χώρες με τα υψηλότερα επίπεδα μικροβιακής αντοχής στα αντιβιοτικά καθώς και στις χώρες με την υψηλότερη κατανάλωση αντιβιοτικών τόσο στην κοινότητα όσο και στο νοσοκομειακό χώρο. Ήδη οι θεραπευτικές επιλογές για ασθενείς με σοβαρές λοιμώξεις από πολυανθεκτικά παθογόνα είναι πολύ περιορισμένες και δυστυχώς, συνεχώς θα περιορίζονται λόγω της εκτεταμένης και μη ορθολογικής χρήσης των αντιβιοτικών. Για να αντιμετωπιστεί λοιπόν η μικροβιακή αντοχή απαιτείται τόσο ο έλεγχος της διασποράς των ανθεκτικών μικροβίων όσο και η ορθολογική χρήση των αντιβιοτικών, ώστε τα τελευταία προωθημένα αντιβιοτικά που διαθέτουμε στη θεραπευτική μας φαρέτρα να παραμείνουν αποτελεσματικά για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων από πολυανθεκτικά στελέχη. Σύμφωνα και με το θεσμικό πλαίσιο για την πρόληψη των λοιμώξεων σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας, η ορθολογική διαχείριση

## Πίνακας 5: Οδηγίες για τη διαχείριση των αντιμικροβιακών παραγόντων στο νοσοκομειακό χώρο

### 1. Συγκρότηση και λειτουργία της Ομάδας Επιτήρησης Κατανάλωσης και Ορθής Χρήσης των Αντιβιοτικών (ΟΕΚΟΧΑ)

- 1.1. Άμεση συγκρότηση και έναρξη λειτουργίας της ΟΕΚΟΧΑ σε κάθε νοσοκομείο
- 1.2. Απαλλαγή για δύο εβδομάδες κάθε δύο μήνες από οποιαδήποτε άλλη απασχόληση του υπεύθυνου λοιμωξιολόγου ή κλινικού ιατρού με αποδεδειγμένη ενασχόληση με το αντικείμενο των λοιμώξεων, που έχει οριστεί από την ΟΕΚΟΧΑ, με στόχο την εντεταλμένη ενασχόλησή του με το πρόγραμμα διαχείρισης των αντιβιοτικών και την επιτήρηση της συνταγογράφησης και του δείκτη κατανάλωσης των αντιβιοτικών στα νοσοκομεία. Απαιτείται η διευκόλυνσή του, ώστε να επιτελεί το έργο του στην ΟΕΚΟΧΑ αποτελεσματικά.
- 1.3. «Υιοθέτηση» νοσοκομείων που δε διαθέτουν εξειδικευμένο προσωπικό, από νοσοκομεία που διαθέτουν περισσότερους από δύο λοιμωξιολόγους, ώστε να είναι διαθέσιμη η απαραίτητη επιστημονική στήριξη σε όσα περισσότερα νοσοκομεία γίνεται. Συστήνεται κάθε δύο μήνες ένας από τους λοιμωξιολόγους νοσοκομείων που διαθέτουν περίσσεια εξειδικευμένου επιστημονικού προσωπικού στο αντικείμενο των λοιμώξεων, να αποκόπτεται από τα καθήκοντά του για δύο εβδομάδες, ώστε να εκτελεί το έργο του σε άλλα νοσοκομεία που τον έχουν ανάγκη. Τη συνεργασία των νοσοκομείων θα καθορίσει και θα συντονίσει η κάθε ΔΥΠΕ για τα νοσοκομεία αρμοδιότητάς της.

### 2. Εφαρμογή Προγραμμάτων Επιτήρησης Αντιμικροβιακών Παραγόντων στα νοσοκομεία

- 2.1. Κάθε ΟΕΚΟΧΑ οφείλει να διαμορφώνει και να εφαρμόζει πρόγραμμα Επιτήρησης Αντιμικροβιακών Παραγόντων στο νοσοκομείο σύμφωνα με τις προτεινόμενες τεχνικές που αναφέρονται στην Εγκύκλιο «Οδηγίες για τη σύνταξη του εσωτερικού κανονισμού πρόληψης και ελέγχου λοιμώξεων σε χώρους παροχής υπηρεσιών υγείας»
- 2.2. Κάθε πρόγραμμα Επιτήρησης Αντιμικροβιακών Παραγόντων πρέπει να έχει στόχους και να συμπεριλαμβάνεται στο Ετήσιο Σχέδιο Δράσης που κατατίθεται στην αρμόδια Διοικητική Υγειονομική Περιφέρεια (ΔΥΠΕ). Σε αυτό συγκαταλέγεται και η συνεχής επιτήρηση, ποιοτική και ποσοτική της συνταγογράφησης και κατανάλωσης των αντιβιοτικών στο νοσοκομείο. Πιο συγκεκριμένα, πρέπει να συμπεριλαμβάνει τουλάχιστον τα ακόλουθα:
  - 2.2.1. Επιτήρηση του δείκτη κατανάλωσης αντιβιοτικών
  - 2.2.2. Επιτήρηση της χρήσης και κατανάλωσης προωθημένων αντιμικροβιακών παραγόντων
  - 2.2.3. Επιτήρηση της Χειρουργικής Αντιμικροβιακής Προφύλαξης (ΧΑΠ) στις χειρουργικές επεμβάσεις σύμφωνα με τις επικαιροποιημένες κατευθυντήριες οδηγίες του ΚΕΕΛΠΝΟ καθώς και τα σχετικά θεραπευτικά πρωτόκολλα του ΚΕΣΥ και συγκεκριμένα:
    - Περιορισμός της χειρουργικής προφύλαξης μόνο στο 1ο 24ωρο από την έναρξη της χειρουργικής επέμβασης
    - Υποχρεωτική ηλεκτρονική χρέωση της ΧΑΠ με ειδική σήμανση στο φαρμακείο του νοσοκομείου από την προϊσταμένη του χειρουργείου με ευθύνη του υπεύθυνου αναισθησιολόγου για κάθε ασθενή που ενδείκνυται να τη λάβει.
    - Επιτήρηση της συνέχισης της ΧΑΠ >24ωρου. Τα δεδομένα της επιτήρησης της ΧΑΠ θα αποδίδονται στο δείκτη κατανάλωσης αντιβιοτικών ξεχωριστά από την υπόλοιπη κατανάλωση των χειρουργικών τημάτων.

Η ΟΕΚΟΧΑ επιτηρεί συστηματικά, έστω και αναδρομικά, τη συμμόρφωση στις παραπάνω οδηγίες.



### 3. Υπεύθυνη χρήση των προωθημένων αντιμικροβιακών παραγόντων (παλαιότερων και νέων)

- 3.1. Τροποποίηση του δελτίου συνταγογράφησης των υπό περιορισμό προωθημένων ευρέως φάσματος αντιβιοτικών καθώς και της διαδικασίας χορήγησής τους από το φαρμακείο του νοσοκομείου. Το νέο δελτίο συνταγογράφησης προωθημένων αντιβιοτικών συμπληρώνεται από το θεράποντα ιατρό και αποστέλλεται στο φαρμακείο, όπου και εγκρίνεται από τον φαρμακοποιό και τον κλινικό ιατρό της ΟΕΚΟΧΑ.
- 3.2. Τροποποίηση της λίστας των προωθημένων – προστατευόμενων αντιβιοτικών, των οποίων η συνταγογράφηση πρέπει να τεθεί υπό περιορισμό. Διευκρινίζεται ότι στην εν λόγω λίστα, συγκαταλέγονται αυτομάτως και όσα τυχόν νεότερα αντιβιοτικά κυκλοφορήσουν στο μέλλον και ανήκουν στις ίδιες ή παραπλήσιες ομάδες αντιμικροβιακών ουσιών με τις ανωτέρω, για τη θεραπεία των πολυανθεκτικών μικροοργανισμών.

### 4. Εκπαίδευση των συνδέσμων και των μελών των ΟΕΚΟΧΑ

Συστήνεται η συνεχής και επαναλαμβανόμενη εκπαίδευση των μελών των ΟΕΚΟΧΑ, καθώς και των κλινικών συνδέσμων, οι οποίοι με τη σειρά τους θα αναλάβουν και θα προωθήσουν την εκπαίδευση των ιατρών του νοσοκομείου τους με βάση σχετικά προγράμματα του ΚΕΕΛΠΝΟ.

των αντιμικροβιακών παραγόντων αποτελεί βασικό κομμάτι του Εσωτερικού Κανονισμού όλων των νοσοκομείων. Για όλους τους παραπάνω λόγους, η πιο πρόσφατη εγκύκλιος (30.05.2019) της Διεύθυνσης Δημόσιας Υγιεινής του Υπουργείου Υγείας προβλέπει τα εξής, όπως παρατίθενται στον **Πίνακα 5**<sup>46</sup>:

### 9. Συμπέρασμα

Τα προγράμματα διαχείρισης αντιβιοτικών έχουν τη

δυνατότητα να προσφέρουν βελτιωμένη ποιότητα φροντίδας στο πλαίσιο της υγειονομικής περίθαλψης, με στόχο τη βελτιστοποίηση της φαρμακοθεραπείας όσο και στη μείωση της μικροβιακής αντοχής. Είναι καταλυτικής σημασίας για τα νοσοκομεία να υιοθετήσουν ανάγολα προγράμματα με τη συμμετοχή μιας διεπιστημονικής ομάδας που συμπεριλαμβάνει μικροβιολόγους, λοιμωξιολόγους, φαρμακοποιούς, νοσηλευτές επιτήρησης λοιμώξεων και όλου του ιατρονοσηλευτικού προσωπικού για την επίτευξη του σκοπού της παρέμβασης. □

# Antimicrobial Stewardship Programs for the rational use of antibiotics and the prevention of antimicrobial resistance

Anna Maria Lavis<sup>1</sup>, Sophia Markantonis-Kyroudis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Biopharmaceutics – Pharmacokinetics, Department of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimiopolis, Zografou 157 84, Athens

## KEYWORDS:

antimicrobial agents;  
antimicrobial resistance;  
antimicrobial stewardship  
Programs; antimicrobial  
regimen; interventions

## ABSTRACT

The problem of antibiotic resistance is increasing globally. The inappropriate use of antibiotics has been linked to the emergence of antibiotic resistance and other adverse effects. As the discovery of new antimicrobials slows down, the need to preserve the existing ones becomes urgent. The term "antimicrobial stewardship" describes the coordinated interventions for the rational use of antibiotics, promoting the selection of the optimal antimicrobial regimen, dose, duration of treatment and route of administration, in order to improve patient outcomes, reduce microbial resistance and minimize the cost. For this purpose, Antimicrobial Stewardship Programs (ASPs) have been developed. There are several methods by which the use of antimicrobials can be intervened upon by ASPs; most fall into two basic categories: restriction of

antimicrobials before they are dispensed initially, often called "prior approval" and review and feedback regarding antimicrobial use sometime after prescription, often called "post-prescription review." ASP interventions have both a short and long-term impact on reducing antimicrobial consumption, antimicrobial resistance, length of hospital stay, incidence of hospital infections, mortality rate and other side effects, as well as medical expenses. Stewardship programs are monitored with predetermined evaluation metrics to reflect their value and viability. In Greece, antimicrobial resistance remains an urgent public health concern since rates of bacterial resistance to broad-spectrum antimicrobials are among the highest in Europe. Therefore, ASPs should be a high priority and hospitals should increase the completion of such initiatives.

## REFERENCES

1. The Bacterial Challenge Time to React.pdf. Accessed March 30, 2020. [https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909\\_TER\\_The\\_Bacterial\\_Challenge\\_Time\\_to\\_React.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf)
2. Spellberg B., Powers J.H., Brass E.P., Miller L.G., Edwards J.E. Trends in Antimicrobial Drug Development: Implications for the Future. *Clin. Infect. Dis.* 38(9), 1279-1286, 2004. doi:10.1086/420937
3. Smith R.D., Coast J. Antimicrobial resistance: a global response. *Bull World Health Organ.* 80(2), 126-133, 2002.
4. CDC. Antibiotic-resistant Germs: New Threats. Centers for Disease Control and Prevention. Published March 13, 2020. Accessed March 30, 2020. <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>
5. Lowy F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J. Clin. Invest.* 111(9), 1265-1273, 2003. doi:10.1172/JCI18535
6. Rice L.B. Federal Funding for the Study of Antimicrobial Resistance in Nosocomial Pathogens: No ESKAPE. *J. Infect. Dis.* 197(8), 1079-1081, 2008. doi:10.1086/533452
7. Carlet J., Jarlier V., Harbarth S., Voss A., Goossens H., Pittet D., Participants of the 3rd World Healthcare-Associated Infections Forum. Ready for a world without antibiotics? The Pensières Antibiotic Resistance Call to Action. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 1(1), 11, 2012. doi:10.1186/2047-2994-1-11
8. Communication from the commission to the European Parliament and the council. Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance Brussels. Published November 15, 2011. Accessed March 30, 2020. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX-3A52011DC0748>
9. Antimicrobial Resistance- Surveillance-Europe-2011.pdf. Accessed March 30, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2011.pdf>
10. ECDC. Antimicrobial resistance in HAIs, maps. European Centre for Disease Prevention and Control. Accessed April 21, 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/healthcare-associated-infections-acute-care-hospitals/database/microorganisms-and-antimicrobial-resistance/resistance>
11. WHONET - Greece. Accessed April 21, 2020. <http://www.mednet.gr/whonet/>
12. Dellit T.H., Owens R.C., McGowan J.E., Gerding D.N., Weinstein R.A., Burke J.P., Huskins W.C., Paterson D.L., Fishman N.O., Carpenter C.F., Brennan P.J., Billeter M., Hooton T.M. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clin. Infect. Dis.* 44(2), 159-177, 2007. doi:10.1086/510393
13. Barlam T.F., Cosgrove S.E., Abbo L.M., MacDougall C., Schuetz A.N., Septimus E.J., Srinivasan A., Dellit T.H., Falck-Ytter Y.T., Fishman N.O., Hamilton C.W., Jenkins T.C., Lipsett P.A., Malani P.N., May L.S., Moran G.J., Neuhauser M.M., Newland J.G., Ohl C.A., Samore M.H., Seo S.K., Trivedi K.K. Implementing an Antibiotic Stewardship Program: Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America. *Clin. Infect. Dis.* 62(10), e51-e77, 2016. doi:10.1093/cid/ciw118
14. Physician Leadership Forum - Antimicrobial Stewardship. Accessed April 5, 2020. <http://www.aha-physicianforum.org/resources/appropriate-use/antimicrobial/index.shtml>
15. Dyar O.J., Beović B., Pulcini C., Tacconelli E., Hulscher M., Cookson B., Ashiru-Oredope D., Barcs I., Blix H.S., Buyle F., Chowders M., Čížman M., Cookson B., Del Pozo J.L., Deptula A., Dumpis U., Florea D., van de Garde E., Geffen Y., Giske C.G., Grau S., Hajdú E., Hell M., Hondo I., Hussein K., Huttner B., Kern W., Kernéis S., Knepper V., Kofteridis D., Kostyanov T., Kuijper E., Lebarova H., Lewis R., Cordina C.M., Matulionyte R., Maurer F., Messiaen P., Miculeviciene J., Mrhar A., Nabuurs-Franssen M., Naesens R., Oxacelay C., Pagani L., Paño-Pardo

- J.R., Paul M., Petrikos G., Pluess-Suard C., Popescu GA, Porsche U, Prins J, Pulcini C, Rello J, Rodríguez-Baño J, Rossolini GM, Salzberger B., Seme K., Simonsen GS, Sînziana M, Skovgaard S, Smith I, Sönsken U, Soriano A, Sviestina I, Szilagyi E., Tängdén T., Tattevin P., Tsioutis C., Vilde A., Wanke-Rytt M., Wechsler-Fördös A., Zarb P. ESCMID generic competencies in antimicrobial prescribing and stewardship: towards a European consensus. *Clin. Microbiol. Infect.* 25(1),13-19, 2019. doi:10.1016/j.cmi.2018.09.022
16. IDSA Practice Guidelines. Accessed April 5, 2020. [https://www.idsociety.org/practiceguidelines#/name\\_na\\_str/ASC/0/+/](https://www.idsociety.org/practiceguidelines#/name_na_str/ASC/0/+/)
  17. Fishman N. Antimicrobial stewardship. *Am. J. Infect. Control.* 34(5),S55-S63, 2006. doi:10.1016/j.ajic.2006.05.237
  18. Tamma P.D., Cosgrove S.E. Antimicrobial Stewardship. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 25(1),245-260, 2011. doi:10.1016/j.idc.2010.11.011
  19. Owens R.C., Ambrose P.G. Antimicrobial stewardship and the role of pharmacokinetics-pharmacodynamics in the modern antibiotic era. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 57(3),S77-S83, 2007. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2006.12.012
  20. Kim S.-W. Antimicrobial Stewardship with Intravenous to Oral Conversion and Future Directions of Antimicrobial Stewardship. *Infect. Chemother.* 49(1), 87, 2017. doi:10.3947/ic.2017.49.1.87
  21. Tamma P.D., Miller M.A., Cosgrove S.E. Rethinking How Antibiotics Are Prescribed: Incorporating the 4 Moments of Antibiotic Decision Making Into Clinical Practice. *JAMA.* 321(2), 139, 2019. doi:10.1001/jama.2018.19509
  22. Mertz D., Koller M., Haller P., Lampert M.L., Plagge H., Hug B., Koch G., Battegay M., Fluckiger U., Bassetti S. Outcomes of early switching from intravenous to oral antibiotics on medical wards. *J. Antimicrob Chemother.* 64(1), 188-199, 2009. doi:10.1093/jac/dkp131
  23. Berríos-Torres S.I., Umscheid C.A., Bratzler D.W., Leas B., Stone E.C., Kelz R.R., Reinke C.E., Morgan S., Solomkin J.S., Mazuski J.E., Dellinger E.P., Itani K.M.F., Berbari E.F., Segreti J., Parvizi J., Blanchard J., Allen G., Kluytmans J.A.J.W., Donlan R., Schechter W.P., for the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Centers for Disease Control and Prevention Guideline for the Prevention of Surgical Site Infection, 2017. *JAMA Surg.* 152(8), 784, 2017. doi:10.1001/jamasurg.2017.0904
  24. Bréchet N., Hékimian G., Chastre J., Luyt C.-E. Procalcitonin to guide antibiotic therapy in the ICU. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 46, S19-S24, 2015. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.10.012
  25. Whipple J.K., Ausman R.K., Franson T., Quebbeman E.J. Effect of individualized pharmacokinetic dosing on patient outcome. *Crit. Care Med.* 19(12), 1480-1485, 1991. doi:10.1097/00003246-199112000-00007
  26. MacFadden D.R., LaDelfa A., Leen J., Gold W.L., Daneman N., Weber E., Al-Busaidi I., Petrescu D., Saltzman I., Devlin M., Andany N., Leis J.A. Impact of Reported Beta-Lactam Allergy on Inpatient Outcomes: A Multicenter Prospective Cohort Study. *Clin. Infect. Dis.* 63(7), 904-910, 2016. doi:10.1093/cid/ciw462
  27. Charneski L., Deshpande G., Smith S.W. Impact of an Antimicrobial Allergy Label in the Medical Record on Clinical Outcomes in Hospitalized Patients. *Pharmacotherapy.* 31(8), 742-747, 2011. doi:10.1592/phco.31.8.742
  28. Leis J.A., Palmay L., Ho G., Raybardhan S., Gill S., Kan T., Campbell J., Kiss A., McCreedy J.B., Das P., Minnema B., Powis J.E., Walker S.A.N., Ferguson H., Wong B., Weber E. Point-of-Care  $\beta$ -Lactam Allergy Skin Testing by Antimicrobial Stewardship Programs: A Pragmatic Multicenter Prospective Evaluation. *Clin. Infect. Dis.* 65(7),1059-1065, 2017. doi:10.1093/cid/cix512
  29. Karanika S., Paudel S., Grigoras C., Kalbasi A., Mylonakis E. Systematic Review and Meta-analysis of Clinical and Economic Outcomes from the Implementation of Hospital-Based Antimicrobial Stewardship Programs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 60(8), 4840-4852, 2016. doi:10.1128/AAC.00825-16
  30. Wagner B., Filice G.A., Drekonja D., Greer N., MacDonald R., Rutks I., Butler M., Wilt T.J. Antimicrobial stewardship programs in inpatient hospital settings: a systematic review. *Infect. Con-*



- trol Hosp. Epidemiol.* 35(10):1209-1228, 2014. doi:10.1086/678057
31. Filice G., Drekonja D., Greer N., Butler M., Wagner B., MacDonald R., Carlyle M., Rutks I., Wilt T.J. Antimicrobial Stewardship Programs in Inpatient Settings: A Systematic Review. Department of Veterans Affairs (US). 2013. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK253513/>
32. Jenkins T.C., Knepper B.C., Shihadeh K., Haas M.K., Sabel A.L., Steele A.W., Wilson M.L., Price C.S., Burman W.J., Mehler P.S. Long-Term Outcomes of an Antimicrobial Stewardship Program Implemented in a Hospital with Low Baseline Antibiotic Use. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 36(6), 664-672, 2015. doi:10.1017/ice.2015.41
33. Slimings C., Riley T.V. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile* infection: update of systematic review and meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 69(4), 881-891, 2014. doi:10.1093/jac/dkt477
34. Feazel L.M., Malhotra A., Perencevich E.N., Kaboli P., Diekema D.J., Schweizer M.L. Effect of antibiotic stewardship programmes on *Clostridium difficile* incidence: a systematic review and meta-analysis. *J. Antimicrob. Chemother.* 69(7), 1748-1754, 2014. doi:10.1093/jac/dku046
35. Impact of Antibiotic Stewardship Programs on *Clostridium difficile* (C. diff) infections | Antibiotic Use | CDC. Published January 16, 2019. Accessed April 14, 2020. <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/healthcare/evidence/asp-int-cdiff.html>
36. Liew Y.X., Lee W., Loh J.C.Z., Cai Y., Tang S.S.L., Lim C.L.L., Teo J., Ong R.W.Q., Kwa A.L.-H., Chlebicki M.P. Impact of an antimicrobial stewardship programme on patient safety in Singapore General Hospital. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 40(1), 55-60, 2012. doi:10.1016/j.ijantimicag.2012.03.004
37. McGowan J.E. Antimicrobial Stewardship—the State of the Art in 2011 Focus on Outcome and Methods. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 33(4), 331-337, 2012. doi:10.1086/664755
38. Burke J.P. Antibiotic Resistance—Squeezing the Balloon? *JAMA.* 280(14), 1270, 1998. doi:10.1001/jama.280.14.1270
39. Cairns K.A., Jenney A.W.J., Abbott I.J., Skinner M.J., Doyle J.S., Dooley M., Cheng A.C. Prescribing trends before and after implementation of an antimicrobial stewardship program. *Med. J. Aust.* 198(5), 262-266, 2013. doi:10.5694/mja12.11683
40. Hohn A., Heising B., Hertel S., Baumgarten G., Hochreiter M., Schroeder S. Antibiotic consumption after implementation of a procalcitonin-guided antimicrobial stewardship programme in surgical patients admitted to an intensive care unit: a retrospective before-and-after analysis. *Infection.* 43(4), 405-412, 2015. doi:10.1007/s15010-014-0718-x
41. Schuts E.C., Hulscher M.E.J.L., Mouton J.W., Verduin C.M., Stuart J.W.T.C., Overdiek H.W.P.M., van der Linden P.D., Natsch S., Hertogh C.M.P.M., Wolfs T.F.W., Schouten J.A., Kullberg B.J., Prins J.M. Current evidence on hospital antimicrobial stewardship objectives: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect. Dis.* 16(7), 847-856, 2016. doi:10.1016/S1473-3099(16)00065-7
42. Coulter S., Merollini K., Roberts J.A., Graves N., Halton K. The need for cost-effectiveness analyses of antimicrobial stewardship programmes: A structured review. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 46(2), 140-149, 2015. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.04.007
43. Dik J.-W.H., Vemer P., Friedrich A.W., Hendrix R., Lo-Ten-Foe J.R., Sinha B., Postma M.J. Financial evaluations of antibiotic stewardship programs—a systematic review. *Front. Microbiol.* 6, 317, 2015. doi:10.3389/fmicb.2015.00317
44. Morris A.M., Brenner S., Dresser L., Daneman N., Dellit T.H., Avdic E., Bell C.M. Use of a Structured Panel Process to Define Quality Metrics for Antimicrobial Stewardship Programs. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 33(5), 500-506, 2012. doi:10.1086/665324
45. Morris A.M. Antimicrobial Stewardship Programs: Appropriate Measures and Metrics to Study their Impact. *Curr. Treat. Options Infect. Dis.* 6(2), 101-112, 2014. doi:10.1007/s40506-014-0015-3
46. Εγκύλιος - Χρήση αντιβιοτικών στα νοσοκομεία. pdf. Accessed May 28, 2020. [https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/08/ma-egkyklios\\_xrissi\\_antiviotikon\\_nosokomeia.pdf](https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/08/ma-egkyklios_xrissi_antiviotikon_nosokomeia.pdf)

# Determination of Carbohydrates of *Chrysanthemum morifolium* L. Leaves and Flowers by GC-MS

Svitlana Marchyshyn<sup>1</sup>, Olha Polonets<sup>2</sup>, Alona Savych<sup>1\*</sup>, Sofia Nakonechna<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmacognosy with Medical Botany, I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry, M. I. Pyrohov Vinnitsa National Medical University, Ukraine

<sup>3</sup>Department of Physiology, Bioethics and Biosafety, I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ukraine

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:**  
**Chrysanthemum**  
**morifolium,**  
**carbohydrates,**  
**monosaccharides, gas**  
**chromatography-mass**  
**spectrometry**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Representatives of the genus *Chrysanthemum* L. have found their application in folk medicine, but do not have evidence for phytochemical composition and pharmacological efficacy. Thus, the aim of our research was to determine the content of carbohydrates, as important biologically active substances, in the leaves and flowers of *Chrysanthemum morifolium* (Belgo and Pectoral species). The carbohydrates were separated by gas chromatography-mass spectrometry after conversion into volatile derivatives as aldononitrile acetate. The monomeric composition of polysaccharides was studied after their hydrolysis to form monosaccharides and polyalcohols. Quantitative analyses of free carbohydrates showed that the predominant sugars were disaccharide – saccharose and monosaccharides – glucose and fructose in the leaves and flowers of both species of *Chrysanthemum*. Concerning the determination of monomers of polysaccharides after hydrolysis, glucose prevailed in all samples. The chromatographic analysis of carbohydrates in the herbal raw materials of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species), launched them as perspective raw materials for the manufacture of herbal medicines.

## \*CORRESPONDING AUTHOR:

Alona Savych  
e-mail: alonasavych@gmail.com

## 1. Introduction

*Chrysanthemum* L. – a genus of flowering plants of the tribe *Anthemideae* of the family *Asteraceae*, which has more than 200 species of annual and perennial herbaceous plants or shrubs that grow in temperate subtropical areas of Southeast China and Japan. Many species and varieties of *Chrysanthemum* are valuable ornamental plants that are

widely used in landscaping in Europe and Asia<sup>1</sup>. *Chrysanthemums* are now mainly grown as an ornamental plant, but some species are used as medicinal. In the folk medicine of Japan and China, the raw materials of *Chrysanthemum morifolium* L. have long been used as a tonic, detoxification, antipyretic, analgesic and sedative<sup>2</sup>. Pharmacological studies of *Chrysanthemum morifolium* L. have shown that it has an effect on lipid and carbohy-

drate metabolism, has antioxidant, antitumor, neuroprotective, hepatoprotective and cardioprotective activities<sup>2, 3</sup>.

Today, chrysanthemums are grown mainly as ornamental plants, only certain species are used for medicinal purposes, but the phytochemical composition and mechanism of action on the human body is still poorly understood. That is why a detailed study of the genus of *Chrysanthemum* L., its biologically active substances that can have a certain pharmacological effect is an important task in pharmacy, because it will expand the potential sources for the manufacture of herbal medicines.

Carbohydrates obtained from plants are very important active substances in medical practice, because they have hypoglycemic, hypolipidemic, anticholesterolemic, antioxidant, anti-inflammatory and detoxifying activities<sup>4,5</sup>. Polysaccharides stimulate the growth of beneficial bacteria in the colon, including *Bifidobacteria* and *Lactobacilli*, thereby modulating the composition of microflora. This creates an environment that protects against pathogens, toxins and free radicals resulting from lipid peroxidation<sup>6</sup>. Powerful antioxidant properties of polysaccharides in number of studies *in vivo* and *in vitro*, whose mechanism of action is not understood exactly, have been observed<sup>4,5,7</sup>. Plant carbohydrates have the ability to regulate the lipid metabolism by lowering of triglycerides and cholesterol, a disorder of which occurs in diabetes and leads to the development of cardiovascular diseases and microcirculatory complications<sup>8</sup>. The hypoglycemic activity of carbohydrates is realized by increasing of insulin secretion, inhibition of glucagon secretion, stimulation of  $\beta$ -cells proliferation and neogenesis<sup>4</sup>. In addition, they also show anti-inflammatory properties, which are manifested by reducing the parameters of inflammation, such as edema, leukocyte migration and nociception<sup>9</sup>. All these carbohydrates properties make them an important group of substances with a wide range of pharmacological activity.

Thus, the aim of our research was to determine the content of carbohydrates, as important biologically active substances, in the leaves and flowers of *Chrysanthemum morifolium* (Belgo and Pectoral species).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Plant materials

It was used the herbal raw materials, such as flowers and leaves of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species), cultivated on experimental areas of the National M.M.Hryshko Botanic Gardens of the National Academy of Sciences of Ukraine. Leaves and flowers of various species of *Chrysanthemum* were harvested during the mass flowering of plants in 2016. After harvesting, the raw materials were dried, crushed and stored according to the general GACP requirements<sup>10</sup>. The plants were identified by Department of Pharmacognosy with Medical Botany, I. Ya. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. The voucher specimens of herbal raw materials have been deposited in Departmental Herbarium for future record.

### 2.2. Chemicals and standards

All applied reagents were of analytical grade ( $\geq 95\%$  purity). Standard reagents including *D*-mannose, *L*-rhamnose, *L*-fucose, *D*-galactose, *D*-xylose, *D*-arabinose, *D*-glucose, *D*-fructose, saccharose, and *D*-sorbitol were purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co. (USA), as well as methanol, trifluoroacetic acid, hydroxylamine hydrochloride, pyridine, dichloroethane, hydrochloride acid, heptanes and ethyl acetate. Water used in the studies was produced by MilliQ Gradient water deionization system (USA).

### 2.3 Conditions of gas chromatography-mass spectrometry

The quantity content of carbohydrates in the samples of the herbal raw materials were studied by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using the Agilent Technologies 6890 gas chromatograph (USA) with mass spectrometry detector 5973 and capillary column<sup>11,12</sup>. Chromatography was performed under these conditions: chromatographic column – capillary HP- 5MS with internal diameter 0.25 mm, length 30 m, carrier gas velocity (helium)

**Table 1: Sensitivity and linearity parameters obtained for individual carbohydrates after GC-MS analysis**

| Monosaccharide | Regression Curve       | R <sup>2</sup> | LOD (mg mL <sup>-1</sup> ) | LOQ (mg mL <sup>-1</sup> ) |
|----------------|------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| Rhamnose       | $y = 0.0159x + 0.1246$ | 0.9924         | 0.19                       | 0.63                       |
| Arabinose      | $y = 0.0133x + 0.0874$ | 0.9928         | 0.83                       | 2.76                       |
| Fucose         | $y = 0.0163x + 0.1314$ | 0.9921         | 0.22                       | 0.73                       |
| Xylose         | $y = 0.0249x + 0.1878$ | 0.9920         | 0.54                       | 1.80                       |
| Manose         | $y = 0.0285x + 0.0888$ | 0.9975         | 1.15                       | 3.83                       |
| Glucose        | $y = 0.0229x + 0.0062$ | 0.9923         | 0.37                       | 1.23                       |
| Galactose      | $y = 0.0232x + 0.0572$ | 0.9951         | 0.29                       | 0.97                       |
| Fructose       | $y = 0.0103x + 0.0412$ | 0.9921         | 0.74                       | 2.47                       |
| Saccharose     | $y = 0.0188x + 0.1396$ | 0.9933         | 0.78                       | 2.60                       |

– 1.2 mL min<sup>-1</sup>, temperature of the evaporator – 250 °C, interface temperature – 280 °C, temperature thermostat programmable from 160 °C to 240 °C at a speed of 5 °C min<sup>-1</sup>. The oven temperature was initially set at 160 °C, held for 8 min, then raised to 240°C and finally kept at this point for 6 min. Injections of 1 µL were made in the split mode 1:50. The detection was held in the SCAN mode in the range of 38-400 *m/z*.

#### 2.4. Extraction of carbohydrates and hydrolysis

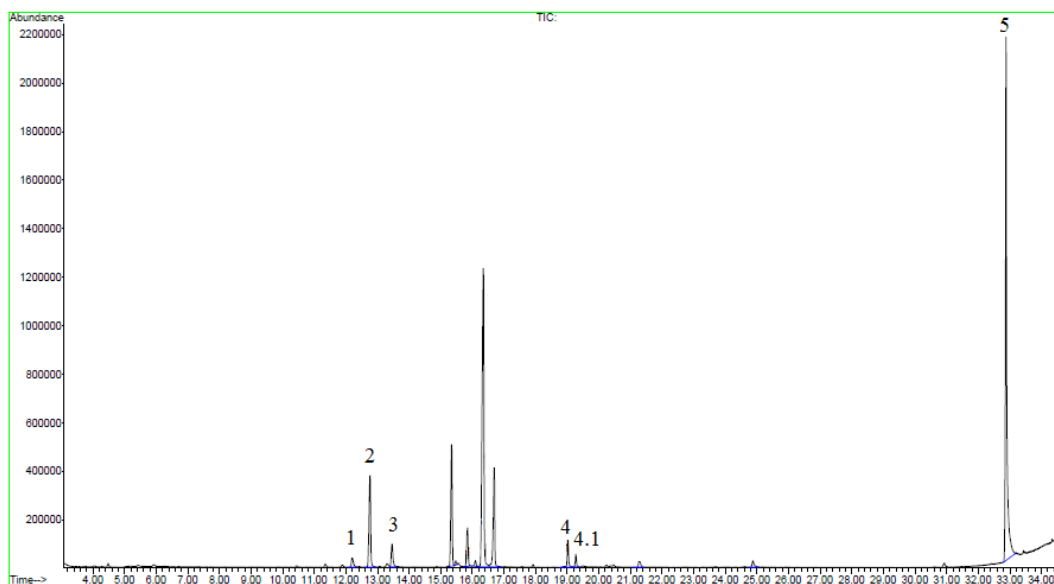
The samples of the herbal raw material were grinded into a powder by laboratory mill, then about 500 mg (accurately weighed) was selected and placed into round bottom flask with 10.0 mL of methanol (80 %) and internal standard – sorbitol (500 µg per sample). The extractions were carried out in the ultrasonic water bath at 80 °C for 4 hours. The resulting extracts were centrifuged at 3000 rpm and the supernatants were evaporated to dryness on a rotary evaporator. One part of the extract was used

for hydrolysis of carbohydrates with 5 mL of 2 (mol L<sup>-1</sup>) trifluoroacetic acid at 100 °C for 6 hours. The obtained hydrolyzed solution was evaporated to dryness under 45 °C and then methanol 1 mL was added for further evaporation and complete removal of trifluoroacetic acid. The rest of the extract was used for the determination of free carbohydrates<sup>12, 13</sup>.

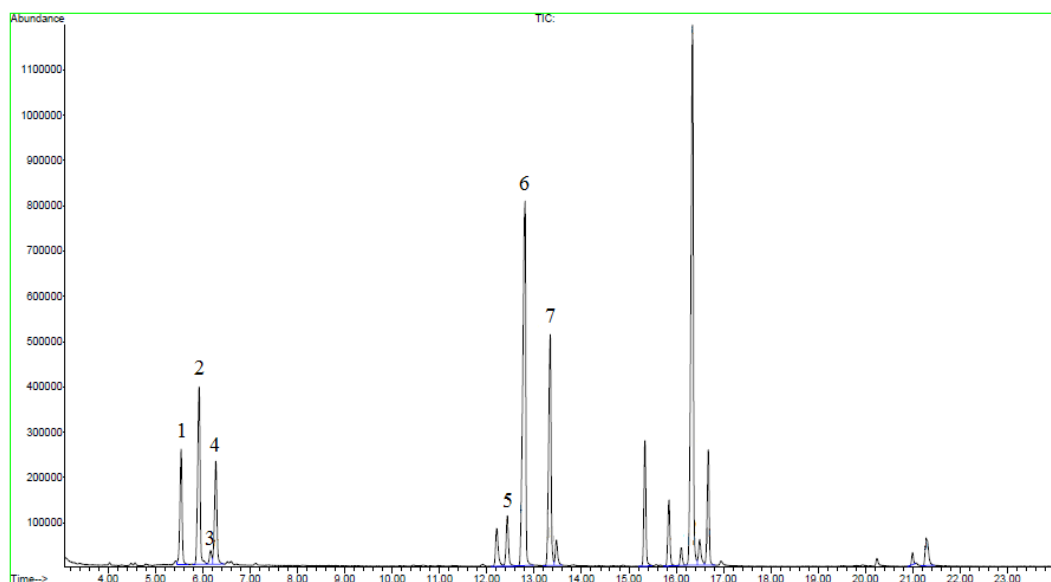
#### 2.5. Derivatisation

To obtain the aldononitrile monosaccharide derivatives, the dried hydrolysates and extracts were taken and 0.3 mL of a derivatization reagent [32 mg mL<sup>-1</sup> hydroxylamine hydrochloride in the mixture of pyridine/methanol (4:1, V/V)] was added. The samples were incubated in a preheated water bath shaker at 75 °C for 25 min. Then, for acetylation of aldonitrile derivatives, 1 mL of acetic anhydride was subsequently added to the samples and incubated at 75 °C for 15 min. To the resulting reaction mixture, 2 mL of dichloroethane were added. The excess of the

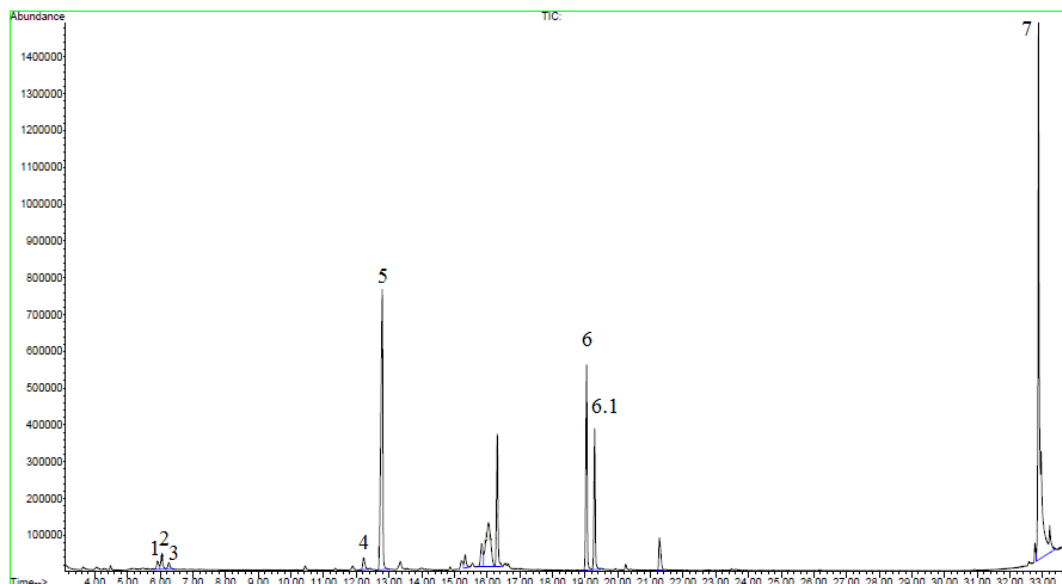




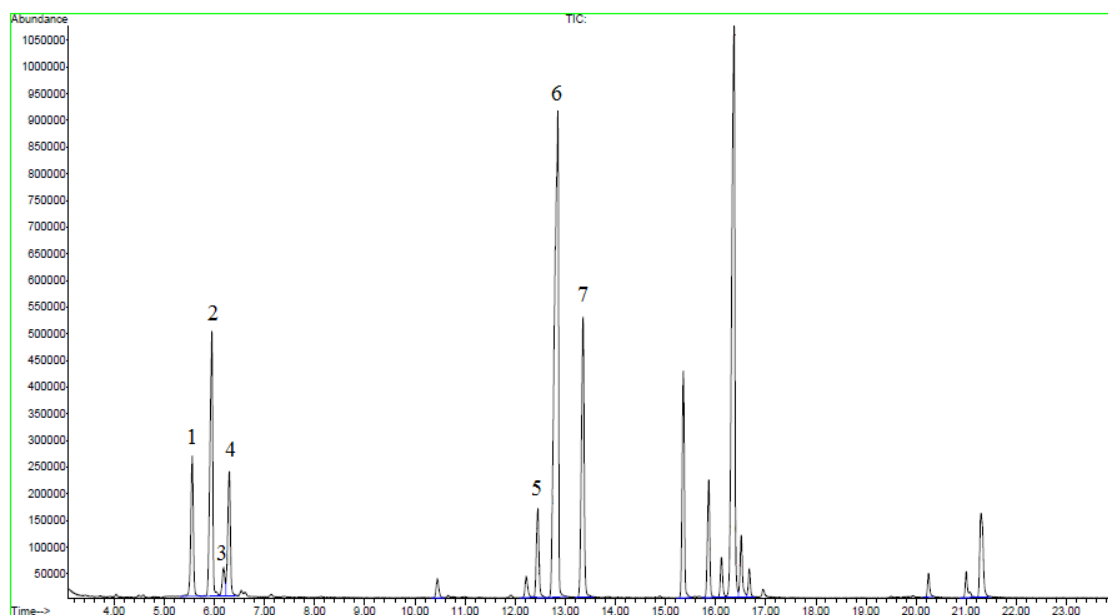
**Figure 1.** GC-MS chromatogram of derivatives of free carbohydrates in *Chrysanthemum morifolium* L. leaves (Pectoral species): 1 – mannose, 2 – glucose, 3 – galactose, 4, 4.1 – fructose, 5 – saccharose.



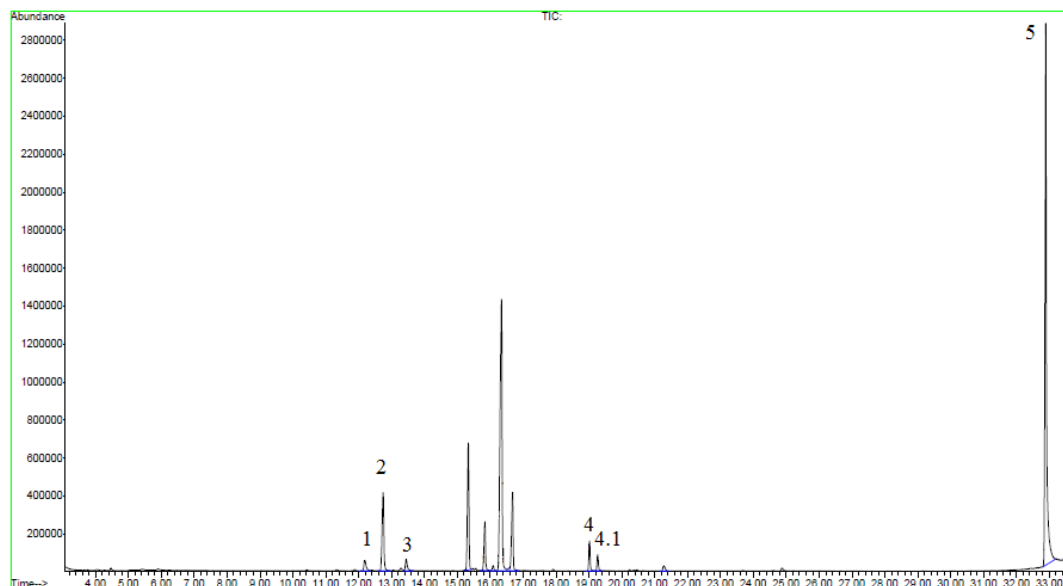
**Figure 2.** GC-MS chromatogram of derivatives of carbohydrates after hydrolysis in *Chrysanthemum morifolium* L. leaves (Pectoral species): 1 - rhamnose, 2 - arabinose, 3 - fucose, 4 - xylose, 5 - mannose, 6 - glucose, 7 – galactose.



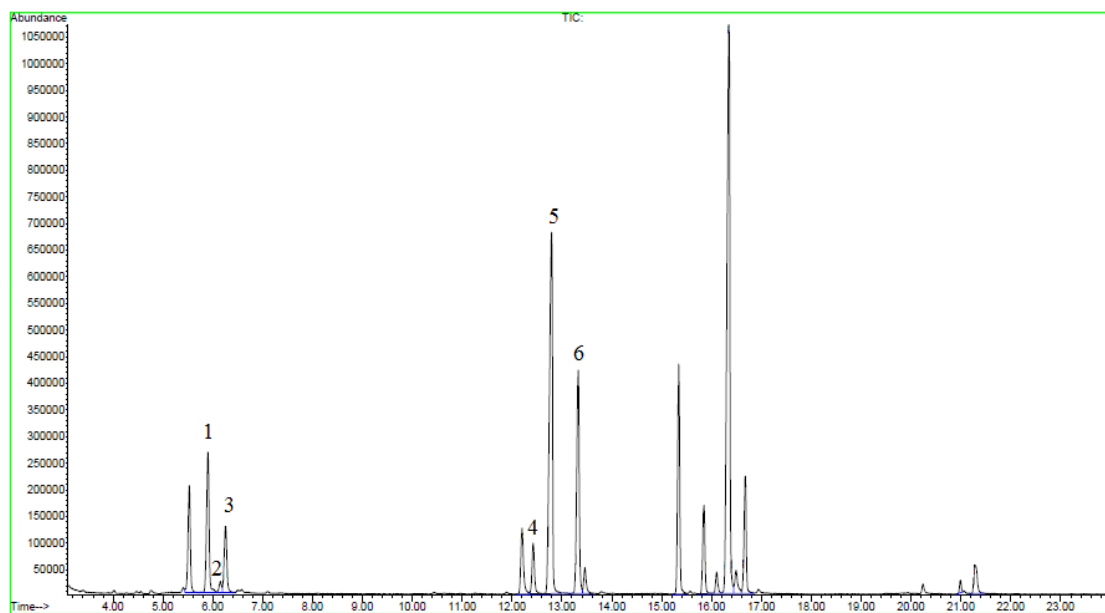
**Figure 3.** GC-MS chromatogram of derivatives of free carbohydrates in *Chrysanthemum morifolium* L. flowers (Pectoral species): 1 – arabinose, 2 – fucose, 3 – xylose, 4 – mannose, 5 – glucose, 6, 6.1 – fructose, 7 – saccharose.



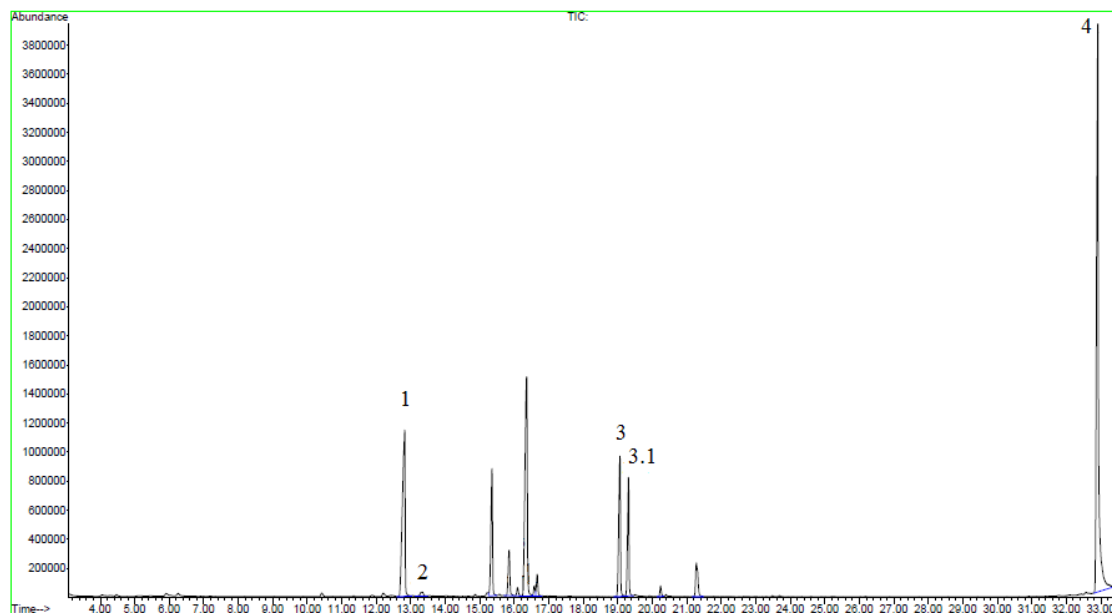
**Figure 4.** GC-MS chromatogram of derivatives of carbohydrates after hydrolysis in *Chrysanthemum morifolium* L. flowers (Pectoral species): 1 – rhamnose, 2 – arabinose, 3 – fucose, 4 – xylose, 5 – mannose, 6 – glucose, 7 – galactose.



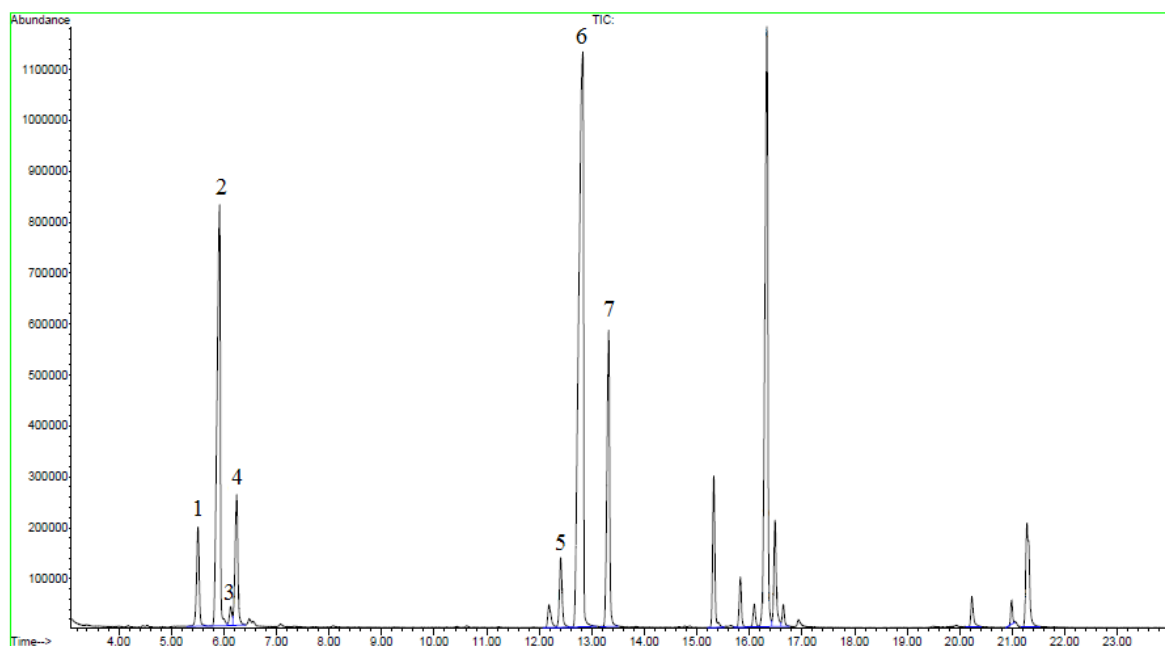
**Figure 5.** GC-MS chromatogram of derivatives of free carbohydrates in *Chrysanthemum morifolium* L. leaves (Belgo species): 1 – mannose, 2 – glucose, 3 – galactose, 4, 4.1 – fructose, 5 – saccharose.



**Figure 6.** GC-MS chromatogram of derivatives of carbohydrates after hydrolysis in *Chrysanthemum morifolium* L. leaves (Belgo species): 1 – arabinose, 2 – fucose, 3 – xylose, 4 – mannose, 5 – glucose, 6 – galactose.



**Figure 7.** GC-MS chromatogram of derivatives of free carbohydrates in *Chrysanthemum morifolium* L. flowers (Belgo species): 1 – glucose, 2 – galactose, 3, 3.1 – fructose, 4 – saccharose.



**Figure 8.** GC-MS chromatogram of derivatives of carbohydrates after hydrolysis in *Chrysanthemum morifolium* L. flowers (Belgo species): 1 – rhamnose, 2 – arabinose, 3 – fucose, 4 – xylose, 5 – mannose, 6 – glucose, 7 – galactose.



derivatization reagents was removed by the double extraction with 1 (mol L<sup>-1</sup>) HCl and water. Dichloroethane phase was dried and dissolved into 300 µL of the mixture of heptane/ethyl acetate (1:1, V/V)<sup>14</sup>.

## 2.6. Identification and calculation by GC-MS

To identify the components, the obtained spectra was analyzed by comparing the retention times with the data of the mass spectra libraries NIST 02. Quantitative analyses were performed by the method of internal standards.

Under normal conditions of derivatization, the ketone carbohydrate (fructose) is converted into an aldo carbohydrate (glucose)<sup>14</sup>. According to this technique, fructose after derivatization gives 2 peaks, which are summed up during calculations.

## 2.7 Method Validation

The method was validated for linearity, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ) and precision. Linearity of the obtained relative peak areas was determined by a calibration curve of five concentrations (25 mg mL<sup>-1</sup>, 12.5 mg mL<sup>-1</sup>, 5 mg mL<sup>-1</sup>, 2.5 mg mL<sup>-1</sup>, 1.25 mg mL<sup>-1</sup>) with a threefold derivatization procedure and a single injection for each reference standard. The mean value and standard deviation, as well as regression analysis were calculated using Microsoft Excel software package 2016 (USA). The LOD and LOQ under the chromatographic conditions were calculated as 3 times and 10 times, respectively. Linearity testing was repeated with the same samples after a complete restart of the system with removal and re-installation of the column. Repeatability precision was determined by five-fold injection of the same sample in a row. For the resulting relative peak area of the quantifier ions the relative standard deviation (RSD) was calculated. To determine intra-day precision, five standard preparations of each reference standard with the same concentration were single injected and the resulting relative peak areas were used to calculate the RSD. Inter-day precision for the day of sample preparation and the two following days was specified by injecting five

standard sample of each reference standard preparations once each on all three days. The RSD of the samples on that day together with the previous samples were calculated as above.

## 3. Results and discussion

The analytical procedure has been validated to confirm its reliability. All the peaks of reference standards showed good linearity ( $R^2 > 0.99$ ) in a wide concentration range (1.25–25 mg mL<sup>-1</sup>). The results showed that the LODs and the LOQs of monosaccharides were in the range of 0.19–1.1 mg mL<sup>-1</sup> and 0.63–3.83 mg mL<sup>-1</sup>, respectively, indicating that the sensitivity of the method was satisfactory. The repeatability of the subsequent derivatization and GC-measurement of five standard samples of each reference standard with the same concentration resulted in precision values for the derivatization procedure. For intra- and inter-day precision, the RSD was in a range of 4.76 % to 6.59 %, which is acceptable (**Table 1.**)

The components from *Chrysanthemum morifolium* L. leaves of both species were identified as mannose, glucose, galactose, fructose and saccharose in free form (**Figures 1, 5**). The predominant carbohydrates in free form were saccharose, its content was in (mg g<sup>-1</sup>): 20.93 in the leaves of *Chrysanthemum morifolium* L. of Belgo species and 15.64 in the leaves of Pectoral species; glucose, its content was in (mg g<sup>-1</sup>): 3.56 and 3.36, respectively; fructose, its content was in (mg g<sup>-1</sup>): 1.52 and 1.16, respectively (**Table 2**). The carbohydrates components from *Chrysanthemum morifolium* L. flowers of Pectoral species were identified as arabinose, fucose, xylose, mannose, glucose, fructose and saccharose, from Belgo species – glucose, galactose, fructose and saccharose (**Figures 3, 7**). The quantitative content of sugars was greater in flowers of Pectoral species of *Chrysanthemum morifolium* L. – content of saccharose in (mg g<sup>-1</sup>): 69.54 from *Chrysanthemum morifolium* L. flowers of Pectoral species and 33.64 from *Chrysanthemum morifolium* L. flowers of Belgo species; content of glucose in (mg g<sup>-1</sup>): 40.95 and 13.08, respectively; content of fructose in (mg g<sup>-1</sup>): 34.57 and 12.18, respectively (**Table 2**).

**Table 2: The results of the GC-MS analysis of carbohydrates in the herbal raw materials of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species)**

| tR<br>(min)                    | Identified<br>substance | Derivatization products                                                            | Content in the herbal raw materials of<br>Chrysanthemum morifolium (mg g <sup>-1</sup> ) |            |                  |            |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------|------------|
|                                |                         |                                                                                    | Belgo species                                                                            |            | Pectoral species |            |
|                                |                         |                                                                                    | leaves                                                                                   | flowers    | leaves           | flowers    |
| Carbohydrates – free form      |                         |                                                                                    |                                                                                          |            |                  |            |
| 5.92                           | Arabinose               | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-arabinonitrile                                           | -                                                                                        | -          | -                | 1.24±0.01  |
| 6.14                           | Fucose                  | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-fuconitrile                                              | -                                                                                        | -          | -                | 1.98±0.02  |
| 6.27                           | Xylose                  | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-xylonitrile                                              | -                                                                                        | -          | -                | 1.17±0.01  |
| 12.22                          | Manose                  | Methyl 2,3,4,6-tetra-O-acetyl-α-D-manno-<br>hexopyranoside                         | 0.59±0.01                                                                                | -          | 0.41±0.01        | 1.94±0.02  |
| 12.79                          | Glucose                 | 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-D-gluconitrile                                            | 3.56±0.02                                                                                | 13.08±0.08 | 3.36±0.12        | 40.95±0.11 |
| 13.47                          | Galactose               | 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-D-galactonitrile                                          | 0.29±0.01                                                                                | -          | 1.36±0.01        | 0.27±0.01  |
| 16.31                          | Sorbitol                | D-sorbitol hexa-acetate                                                            | Internal standard                                                                        |            |                  |            |
| 19.05                          | Fructose                | Naphthalene-1-carboxylic acid-4-butylamino-<br>6,7-dimethoxy-2-methyl- ethyl ester | 0.98±0.01                                                                                | 7.06±0.01  | 0.82±0.01        | 21.09±0.02 |
| 19.29                          | Fructose                | 1-Nitro-4-phenoxyanthraquinone                                                     | 0.54±0.01                                                                                | 5.12±0.01  | 0.34±0.01        | 13.48±0.02 |
| 32.88                          | Saccharose              | Saccharose octa-acetate                                                            | 20.93±0.02                                                                               | 33.64±0.01 | 15.64±0.03       | 69.54±0.02 |
| Carbohydrates after hydrolysis |                         |                                                                                    |                                                                                          |            |                  |            |
| 5.54                           | Rhamnose                | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- L-rhamnonitrile                                            | -                                                                                        | 4.63±0.01  | 4.92±0.01        | 5.53±0.01  |
| 5.92                           | Arabinose               | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-arabinonitrile                                           | 6.07±0.02                                                                                | 23.97±0.02 | 8.36±0.01        | 11.36±0.02 |
| 6.14                           | Fucose                  | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-fuconitrile                                              | 0.46±0.01                                                                                | 0.85±0.01  | 0.62±0.01        | 1.15±0.01  |
| 6.27                           | Xylose                  | 2,3,4,5-Tetra-O-acetyl- D-xylonitrile                                              | 3.08±0.01                                                                                | 6.36±0.01  | 4.82±0.02        | 5.23±0.01  |
| 12.22                          | Manose                  | 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-D-manonitrile                                             | 2.12±0.01                                                                                | 3.28±0.01  | 2.30±0.01        | 3.50±0.01  |
| 12.79                          | Glucose                 | 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-D-gluconitrile                                            | 19.24±0.03                                                                               | 46.90±0.03 | 20.89±0.02       | 30.30±0.02 |
| 13.47                          | Galactose               | 2,3,4,5,6-Penta-O-acetyl-D-galactonitrile                                          | 9.63±0.02                                                                                | 13.71±0.01 | 10.86±0.01       | 11.75±0.01 |
| 16.31                          | Sorbitol                | D-sorbitol, hexa-acetate                                                           | Internal standard                                                                        |            |                  |            |

Values are expressed as mean ± SD (n=5).

During GC-MS, it was identified carbohydrates after hydrolysis, which content in the herbal raw materials of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species), such as rhamnose, arabinose, fucose, xylose, mannose, glucose and galactose, with the exception of rhamnose, which is absent in the leaves of *Chrysanthemum* of Belgo variety (**Figures 2, 4, 6, 8**). Results of quantification of sugars in different species of *Chrysanthemum morifolium* L. indicate that flowers have higher content of sugars in comparison to the leaves. The predominant ones were glucose, which formed after hydrolysis, its content was in ( $\text{mg g}^{-1}$ ): 46.90 in the flowers and 19.24 in the leaves of *Chrysanthemum morifolium* L. of Belgo species; 30.30 in the flowers and 20.89 in the leaves of *Chrysanthemum morifolium* L. of Pectoral species (**Table 2**).

The chromatographic analysis of carbohydrates in the herbal raw materials of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species), launched them as perspective raw materials for the manufacture of drugs with hypoglycemic, hypolipidemic, anticholesterolemic, antioxidant, anti-inflammatory and detoxifying effects.

#### 4. Conclusions

For the first time it was carried out the comparative study of qualitative composition and quantitative content of carbohydrates in the leaves and flowers of *Chrysanthemum morifolium* L. (Belgo and Pectoral species). During GC-MS analysis it was established that the predominant carbohydrates in free form was saccharose, glucose and fructose in all studied herbal raw materials. The results of chromatography research showed that in the flowers of the studied species of *Chrysanthemum* higher sugar content than in leaves. It was found that flowers of *Chrysanthemum* Pectoral species contains the largest quantity of sugars in free form, such as saccharose ( $69.54 \text{ mg g}^{-1}$ ), glucose ( $40.95 \text{ mg g}^{-1}$ ), fructose ( $34.57 \text{ mg g}^{-1}$ ), the content of carbohydrates after hydrolysis was higher in the flowers of Belgo species – glucose ( $46, 90 \text{ mg g}^{-1}$ ), arabinose ( $23.97 \text{ mg g}^{-1}$ ), galactose ( $13.71 \text{ mg g}^{-1}$ ). □

#### Conflict of Interests

The authors declare that they have no conflict of interests to disclose.

#### REFERENCES

1. Mabberley D. J. (2008) Mabberley's Plant-Book: a portable dictionary of plants, their classification and uses. 3rd ed. Cambridge University Press, New York, P. 1021.
2. Shahrajabian M. H. A review of *Chrysanthemum*, the eastern queen in traditional Chinese medicine with healing power in modern pharmaceutical sciences. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17, 13355–13369, 2019, doi: 10.15666/aer/1706\_1335513369.
3. Youssef F. S., Eid S. Y., Alshammari E., Ashour M. L., Wink M., El-Readi M. Z. *Chrysanthemum indicum* and *Chrysanthemum morifolium*: chemical composition of their essential oils and their potential use as natural preservatives with antimicrobial and antioxidant activities. *Foods*. 9(10), 1460, 2020, doi: 10.3390/foods9101460.
4. Ganesan K., Xu B. Anti-Diabetic effects and mechanisms of dietary polysaccharides, *Molecules*, 24, 2556, 2019, doi: 10.3390/molecules24142556.
5. Luo Y., Peng B., Wei W., Tian X., Wu Z. Antioxidant and anti-diabetic activities of polysaccharides from guava leaves, *Molecules*. 24, 1343, 2019, doi: 10.3390/molecules24071343.
6. Zhang T., Yang Y., Liang Y., Jiao X., Zhao C. Beneficial effect of intestinal fermentation of natural polysaccharides, *Nutrients*. 10, 1055, 2018, doi: 10.3390/nu10081055.
7. He J., Xu Y., Chen H., Sun P. Extraction, structural characterization, and potential antioxidant activity of the polysaccharides from four seaweeds, *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1988, 2016, doi: org/10.3390/ijms17121988.
8. Mistry R. H., Gu F., Schols H. A., Verkade H. J.,

- Tietge U. Effect of the prebiotic fiber inulin on cholesterol metabolism in wildtype mice, *Sci. Rep.* 8, 13238, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-31698-7.
9. Neelakandan Y, Venkatesan A. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of sulfated polysaccharide fractions from *Sargassum wightii* and *Halophila ovalis* in male Wistar rats, *Indian J. Pharmacol.* 48, 562–570, 2016, doi: org/10.4103/0253-7613.190754.
10. World Health Organization (2003), WHO Guidelines on Good Agricultural and Mixture Practices (GACP) for Medicinal Plants. *World Health Organization*, Geneva, pp. 72.
11. Chen Y., Xie M.Y., Wang Y. X., Nie S. P., Li C., Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography, *J. Phytochem Anal.* 20, 503, 2009, doi: org/10.1002/pca.1153.
12. Savych A., Marchyshyn S., Milian I. Determination of carbohydrates in the herbal anti-diabetic mixtures by GC-MC, *Acta Pharm.* 71, 429-443, 2021, doi: 10.2478/acph-2021-0026.
13. Guan J., Yang F. Q., Li S. P. Evaluation of carbohydrates in natural and cultured Cordyceps by pressurized liquid extraction and gas chromatography coupled with mass spectrometry, *Molecules.* 15, 4227–4241, 2010, doi: 10.3390/molecules15064227.
14. Agius C., Tucher S., Poppenberger B., Rozhon W. Quantification of sugars and organic acids in tomato fruits, *MethodsX.* 5, 537–550, 2018, doi: org/10.1016/j.mex.2018.05.014.

## ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ - MEETINGS

Η εξάπλωση του δεύτερου κύματος της πανδημίας COVID-19 που δοκιμάζει τις κοινωνίες σε παγκόσμιο επίπεδο έχει στερήσει τις επιστημονικές εταιρείες από τη δυνατότητα να πραγματοποιούν επιστημονικές εκδηλώσεις και συνέδρια, με φυσική παρουσία.. Ως εκ τούτου τα συνέδρια που προγραμματίζονται εντός του 2021 θα πραγματοποιηθούν on line εικονικά (virtually) ή υβριδικά. Μένουμε ασφαλείς!

The spread of the second wave of COVID-19 pandemic does not allow scientific activities to take place with physical presence. Thus, all scientific events scheduled till spring 2021, or will be conducted virtually or as hybrid events, while all face-to-face activities have been replaced with online meetings. Stay safe!

• **01/11/2020 - 30/11/2020 6th INTERNATIONAL ELECTRONIC CONFERENCE ON MEDICINAL CHEMISTRY**

<https://sciforum.net/series/ecmc/latest>

• **11-13 NOVEMBER 2020**

**9<sup>th</sup> OFFICIAL CONFERENCE OF THE INTERNATIONAL CHEMICAL BIOLOGY SOCIETY**

(Virtual ICBS2020) Virtual Meeting

<https://www.chemical-biology.org/page/ICBS2020>

• **26 - 27 ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΥ 2021**

**18<sup>th</sup> HELLENIC SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY (VIRTUAL MEETING) (HSMC-18)**

EFMC Sponsored Event

<https://helmedchem2020.gr/>

• **JUNE 5-6 2021 MEGARON ATHENS INTERNATIONAL CONFERENCE CENTRE - MAICC**

**50<sup>th</sup> ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ ΦΡΟΝΤΙΔΑΣ (HYBRID EVENT)**

[https://www.facebook.com/events/225045625955045/?source=6&ref\\_notif\\_type=plan\\_user\\_invited&action\\_history=null](https://www.facebook.com/events/225045625955045/?source=6&ref_notif_type=plan_user_invited&action_history=null)

• **JUNE 7 - 9, 2021 GOTHENBURG SWEDEN**

**EUFEPS ANNUAL MEETING 2021 (VIRTUAL EVENT)**

<https://www.lakemedelsakademien.se/seminariersymposier/eufeps-annual-meeting-2021/>

• **3-10 JULY 2021, THESSALONIKI, GREECE**

**INTERNATIONAL CONFERENCES & EXHIBITION ON NANOTECHNOLOGIES, ORGANIC ELECTRONICS & NANOMEDICINE, NANOTECHNOLOGY 2021 HYBRID EVENT**

<https://www.nanotextology.com/>

• **29 AUGUST - 2 SEPTEMBER 2021 - BASEL, SWITZERLAND**

**XXVI EFMC INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MEDICINAL CHEMISTRY (EFMC-ISM 2021) EFMC (ON LINE SYMPOSIUM)**

<https://www.efmc-ismc.org/>

• **2-3 SEPTEMBER 2021, BASEL, SWITZERLAND**

**8<sup>th</sup> EFMC YOUNG MEDICINAL CHEMISTS' SYMPOSIUM (EFMC-YMCS 2021) EFMC SYMPOSIUM**

<https://www.efmc-ymcs.org/>

• **19-23 SEPTEMBER 2021, BARCELONA, SPAIN**

**23<sup>rd</sup> EUROPEAN SYMPOSIUM ON QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP (23<sup>rd</sup> EUROQSAR) EFMC Sponsored Event**

<https://www.euroqsar2020.org/>



