

Direcții noi în lupta cu antibioretistența New directions in the fight against antibiotic resistance

Folescu Mihai, Dumitrescu Eugenia, Florin Muselin, Alexandru O. Doma, Cocoș Daiana, Larisa Ardelean, Cristina T. Romeo
FMV Timișoara

mikefolescu@gmail.com

Cuvinte cheie: AI, raspunsul imunitar, antibioretistenta, farmaceutice, perete celular, mecanism de actiune.

Key words: AI, immune response, antibiotic resistance, pharamaceuticals, cell wall, mechanism of action.

Rezumat

Antibioticele au transformat medicina, permițând tratamente eficiente pentru infecții fatale în trecut și sprijinind progrese importante, cum ar fi chirurgia și transplanturile. Totuși, rezistența tot mai larg răspândită reduce eficiența acestora, iar descoperirea de noi medicamente devine crucială în lupta continuă împotriva patogenilor umani. Antibioretistența reprezintă una dintre cele mai mari provocări ale medicinei moderne, având un impact semnificativ asupra tratamentului infecțiilor bacteriene. Dezvoltarea rezistenței la antibiotice face ca tratamentele standard să devină ineficiente, ceea ce pune viețile pacienților în pericol și limitează opțiunile terapeutice disponibile. În fața acestei crize globale, cercetările recente deschid noi direcții în combaterea antibioretistenței, concentrându-se pe descoperirea de antibiotice inovative, soluții alternative și strategii de prevenire a răspândirii rezistenței. Aceste progrese sunt esențiale pentru a răspunde provocărilor viitoare în domeniul sănătății.

Abstract

Antibiotics have transformed medicine, enabling effective treatments for infections that were once fatal and supporting significant advancements such as surgery and organ transplants. However, the growing spread of resistance reduces their effectiveness, making the discovery of new drugs crucial in the ongoing battle against human pathogens. Antibiotic resistance represents one of the greatest challenges of modern medicine, having a significant impact on the treatment of bacterial infections. The development of antibiotic resistance renders standard treatments ineffective, putting patients' lives at risk and limiting available therapeutic options. In the face of this global crisis, recent research is opening new directions in combating antibiotic resistance, focusing on the discovery of innovative antibiotics, alternative solutions, and strategies to prevent the spread of resistance. These advances are essential for addressing future health challenges.

1. Descoperirea unui nou antibiotic în microbii din solul Carolinei de Nord.

Un nou antibiotic, produs de bacterii crescute în laborator, poate distruge „superbacteriile” fără a le determina să devină mai rezistente la tratament, sugerează un studiu preliminar. Cercetătorii au izolat antibioticul, numit *clovibactina*, dintr-o bacterie numită *Eleftheria terrae* subspecia *carolina*, pe care au colectat-o din probe de sol din Carolina de Nord [20].

Clovibactina este un antibiotic chimic nou, care provine din ceea ce se numeste „materia întunecată” a bacteriilor bacterii care nu au fost cultivate până acum în laborator.

Acesta nu este toxic, lucru ce reiese din experimentele pe animale și se dovedește mai eficient decât antibioticul de referință vancomicina, care este folosit pentru tratarea infecțiilor bacteriene rezistente la alte medicamente, dar care începe să devină ineficace împotriva unor tulpini de bacterii [19].

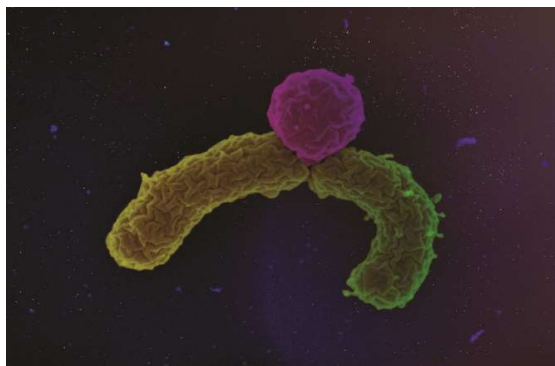


Fig. 1. *Eleftheria terrae* subspecies *carolina*.
Sursa: William Fowle, Northeastern University [42]

Mecanismele clasice de acțiune ale antibioticelor

Antibioticele acționează prin diferite mecanisme pentru a distruge sau a inhiba creșterea bacteriilor, ținând cont de caracteristicile celulelor bacteriene și de modul în care acestea se diferențiază de celulele umane.

Principalele mecanisme de acțiune ale antibioticelor includ:

Inhibarea sintezei peretelui celular:

Peretele celular al bacteriilor este esențial pentru integritatea lor. Unele antibiotice, cum sunt penicilinele și cefalosporinele, împiedică sinteza acestui perete, determinând astfel ruperea bacteriilor. Acestea se leagă de enzimele implicate în formarea peretelui celular, ceea ce duce la liza celulei bacteriene și la moartea bacteriei.

Inhibarea sintezei proteinelor:

Bacteriile au ribozomi proprii, diferiți de cei ai celulelor umane, iar antibioticele care vizează sinteza proteinelor inhibă activitatea ribozomilor bacterieni.

De exemplu, macrolidele (cum ar fi eritromicina) și tetraciclina se leagă de ribozomii bacteriali și blochează procesul de traducere a informației genetice în proteine, esențial pentru supraviețuirea bacteriilor [9].

Inhibarea sintezei acidului nucleic:

Alte antibiotice, cum sunt chinolonele și rifamicinele, inhibă enzimele bacteriene implicate în sinteza ADN-ului și ARN-ului. De exemplu, chinolonele blochează ADN-giraza,

o enzimă esențială pentru replicarea ADN-ului bacterian. Fără acest mecanism de replicare, bacteriile nu pot să se înmulțească și mor.

Modificarea permeabilității membranei celulare: Anumite antibiotice, cum sunt polimixinelor, intervin în structura membranei celulare a bacteriilor, determinându-le să își piardă integritatea.

Aceste antibiotice formează canale în membrană, care permit scurgerea conținutului celular esențial și duc la moartea bacteriei [41].

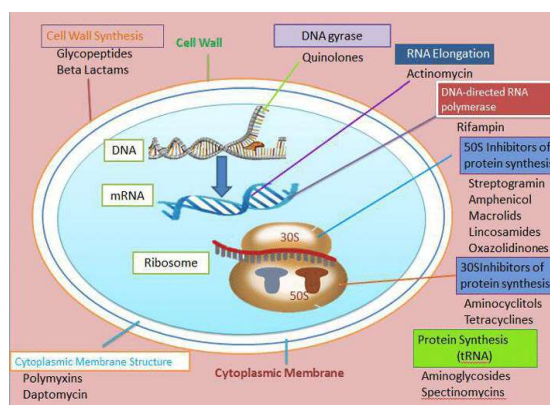


Fig. 2. Diferite mecanisme de acțiune ale antibioticelor
Sursa: https://www.researchgate.net/figure/The-mechanism-of-action-of-different-types-of-antibiotics-Antibacterial-action-generally_fig4_315925913 [43].

Inhibarea metabolismului bacterian:

Unele antibiotice, cum ar fi sulfonamidele, interferează cu metabolismul bacterian prin inhibarea enzimelor implicate în sinteza acidului folic, o substanță esențială pentru multiplicarea bacteriilor. Aceste antibiotice acționează prin blocarea unei etape cheie a metabolismului, care împiedică bacteriile să-și producă materialele necesare pentru creștere [37].

Acțiunea asupra biosintezei lipidelor:

Unele antibiotice, cum ar fi lipopeptidele, afectează biosinteza lipidelor în membrana bacteriană. Acestea perturbă formarea și întreținerea membranei bacteriale, ceea ce duce la moartea celulei bacteriene.

Fiecare dintre aceste mecanisme vizează o componentă sau un proces vital pentru supraviețuirea bacteriilor, iar în funcție

de modul în care antibioticul acționează, acesta poate fi clasificat ca bactericid (care distruge bacteriile) sau bacteriostatic (care inhibă creșterea și înmulțirea bacteriilor).

De asemenea, antibioticele pot fi cu spectru larg, având efect asupra unui număr mare de tipuri de bacterii, sau cu spectru îngust, acționând doar asupra unor tulpini bacteriene specifice [29].

Bacteriile necultivate

Bacteriile necultivate reprezintă o sursă vastă (aproape 99% din toate speciile) și neexploată de noi structuri de produse naturale. Recent, dezvoltarea tehnicii iChip a oferit acces la o mare diversitate de specii bacteriene necultivate, ceea ce a dus la descoperirea *teixobactinei*, izolată din bacteria de sol *Eleftheria terrae* [26].

Teixobactina prezintă o activitate antibacteriană excelentă și o structură chimică unică.

Aceasta blochează biosinteza peretelui celular prin legarea specifică de precursori lipidici, formând structuri supramoleculare care perturbă stabilitatea membrane [33].

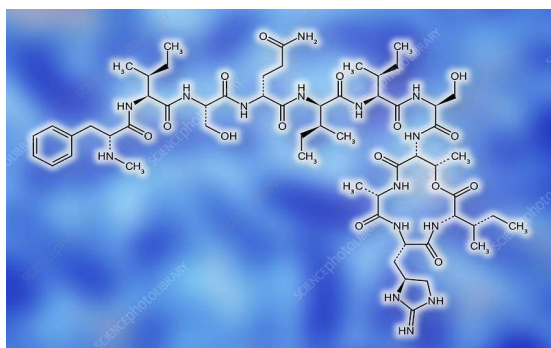


Fig. 3. Teixobactina – formula chimică

Sursa: <https://www.sciencephoto.com/media/642105/view/teixobactin-antibiotic-formula> [44]

Alte antibiotice cu mecanisme de acțiune noi descoperite prin screening-ul bacteriilor necultivate sunt lassomicina, un inhibitor al proteazei ClpP1P2C1, și amycobactina, un inhibitor al exportorului de proteină SecY, ambele acționând selectiv împotriva micobacteriilor.

Prin urmare, bacteriile necultivate par a oferi o sursă bogată de compuși cu caracteristici chimice și mecanice noi, ceea ce este promițător pentru descoperirea continuă de antibiotice eficiente pentru dezvoltarea unor terapii de generație viitoare.

În acest context, raportăm descoperirea și modul de acțiune al clovibactinei, un antibiotic fără rezistență detectabilă, identificat în urma unui screening al bacteriilor necultivate [35].

Descoperirea clovibactinei

Anterior, era dificil să se cultive *E. terrae subspecia carolina*, deoarece, pentru a supraviețui, aceasta necesită nutrienți specifici și microbi simbiotici din solul în care crește.

Însă, cercetătorii au dezvoltat un dispozitiv care poate recrea condițiile necesare pentru a cultiva acest microb rar în solul său natural [40].

Clovibactina este un antibiotic peptidic inovativ, descoperit recent, care prezintă o structură chimică unică și un mecanism de acțiune promițător în combaterea bacteriilor rezistente la antibiotice.

Este produsă de o bacterie descoperită în solul din Carolina de Nord (*Eleftheria terrae*), un microb care până atunci nu fusese cultivat în laborator [5].

Structura clovibactinei include o secvență liniară de aminoacizi, dintre care se remarcă prezența a două aminoacizi D și un reziduu rar, D-3-hidroxi-asparagină, în cadrul unui ciclu depsi.

Aceste caracteristici chimice neobișnuite îi conferă compusului stabilitate și eficiență în combaterea bacteriilor.

Deși structura sa este asemănătoare cu cea a altui antibiotic, teixobactina, clovibactina are un capăt N-terminal liniar mai scurt și diferă în structura specifică a reziduurilor sale, ceea ce o face unică în fața altor antibiotice peptidice [30].

Un aspect remarcabil al clovibactinei este faptul că nu a fost identificată rezistență

semnificativă până acum, ceea ce sugerează un potențial ridicat în combaterea bacteriilor patogene, inclusiv a celor multirezistente.

Acest antibiotic acționează prin inhibarea biosintezei peretelui celular bacterian, un proces esențial pentru creșterea și supraviețuirea bacteriilor.

Clovibactina se leagă de precursori lipidi foarte conservați, perturbând structura membranei bacteriene și prevenind replicarea acestora.

Datorită acestor caracteristici, clovibactina reprezintă o posibilă soluție în lupta împotriva infecțiilor rezistente la antibiotice și deschide noi perspective pentru dezvoltarea unor medicamente mai eficiente în tratarea bolilor bacteriene [32].

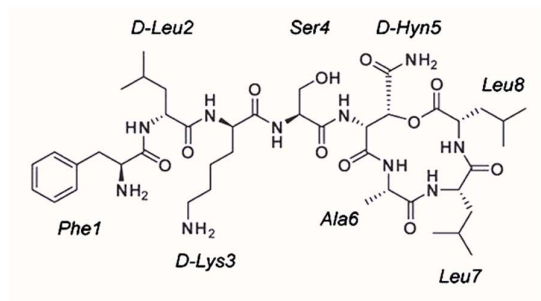


Fig. 4. Clovibactina – formula chimică

Sursa: <https://www.the-chemistry-editor.com/post/unearthing-clovibactin-a-breakthrough-depsipeptide-antibiotic-defying-drug-resistance> [45].

Eficacitatea clovibactinei

Clovibactina a demonstrat activitate antibacteriană împotriva unui spectru larg de patogeni Gram-pozitivi, inclusiv împotriva tulpinilor de *S. aureus* rezistente la metilicilină (MRSA), rezistente la daptomicină și cu rezistență intermediară la vancomicină (VISA), precum și împotriva unor tulpini greu de tratat de *Enterococcus faecalis* și *E. faecium* rezistente la vancomicină (enterococi rezistenți la vancomicină - VRE).

În schimb, *Escherichia coli* a fost afectată doar marginal, comparativ cu tulpina de *E. coli* WO153, care prezenta deficiențe în membrana exterioară, ceea ce sugerează o penetrare insuficientă a compusului în cazul acesteia. [39].

S-a descoperit că clovibactina poate distruge două super-bacterii periculoase: *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilină (MRSA) și *Enterococcus faecalis* rezistent la vancomicină.

MRSA poate provoca infecții care pun viața în pericol atunci când pătrunde în organism prin răni sau în timpul unei intervenții chirurgicale, în timp ce *E. faecalis* cauzează diverse tipuri de infecții, inclusiv infecții ale tractului urinar [13].

Clovibactina este un antibiotic bactericid, cu o concentrație minimă bactericidă (MBC) pentru *S. aureus* de 2 × concentrația minimă inhibitorie (MIC).

Cercetătorii au studiat mai detaliat efectul său asupra eliminării bacteriilor în funcție de timp și au constatat că clovibactina este mai eficientă în uciderea *S. aureus* decât vancomicina, antibiotic utilizat în prima linie de apărare.

Aceștia au observat o liza puternică a culturilor bacteriene și au cuantificat acest efect. În trecut, teixobactina a fost demonstrată ca fiind rapid bactericidă și inducând liza bacteriilor mediată de enzima AtlA, o autoliză majoră a peretelui celular al *S. aureus* [31].

Liza pronunțată observată cu clovibactina este tipică pentru compușii care acționează ca detergenți, distrugând rapid membrana celulară. Totuși, liza indusă de clovibactină nu rezultă din formarea rapidă de pori sau din disfuncționalizarea membranei, fiind evidențiată de lipsa efectelor asupra membranei în testele de permeabilizare, spre deosebire de lantibioticul nisin [17].

Tratamentul cu clovibactină nu a dus la depolarizarea rapidă a membranei, spre deosebire de acțiunea teixobactinei, care subțiază și depolarizează membranele bacteriene [34].

Mecanismul de acțiune al clovibactinei

Incapacitatea bacteriilor *S. aureus* de a rezista la clovibactină ar putea fi datorată

modului unic în care acest antibiotic le distruge: acesta vizează undecaprenil-pirofosfatul, un grup chimic găsit în trei molecule de grăsime care formează blocurile de construcție ale peretelui celular bacterian.

Clovibactina înconjoară aceste molecule ca o cușcă, motiv pentru care numele său provine din cuvântul grecesc „*klouv*”, care înseamnă „cușcă” [36].

Fiindcă bacteriile nu pot modifica ușor aceste blocuri de construcție fără a distruge peretele celular, ar fi foarte greu pentru ele să dezvolte rezistență la clovibactină.

Clovibactina se leagă de gruparea pirofosfat (PPI) a mai multor precursori esențiali ai peretelui celular.

De obicei, PPI nu este considerat o țintă adecvată pentru un antibiotic, deoarece va fi eliberat din celulele moarte împreună cu nucleozidele fosfatate care conțin PPI [15].

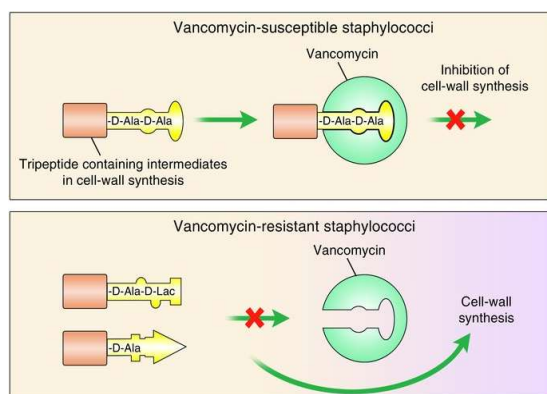


Fig. 5. Rezistența la vancomicina

Sursa: onlineacademiccommunity.uvic.ca [46]

Totuși, pirofosfatul este atât o componentă esențială, cât și o parte imuabilă a intermediarilor lipidici ai peretelui celular, spre deosebire de alte părți ale moleculelor, cum ar fi pentapeptida din lipid II sau zaharurile, care pot fi modificate (de exemplu, în *mycobacteria*) sau mutate [25].

Mai mult, substituirea D-Ala-D-Lac în pentapeptida lipidului II reprezintă un mecanism comun de rezistență la vancomicină. Legarea de PPI imuabil ar explica absența rezistenței detectabile la acest compus.

Toxicitatea clovibactinei

Clovibactina nu a prezentat niciun efect citotoxic asupra celulelor mamiferelor NIH/3T3 și HepG2 la concentrația de 100 μg/mL (cea mai mare concentrație testată).

Având în vedere activitatea antimicrobiană puternică și citotoxicitatea scăzută, s-a examinat acțiunea acestui antibiotic în condiții in vivo. În urma unui studiu farmacocinetic (PK). Pentru a se evalua expunerea sistemică și timpul de remanență în sânge al compusului, o singură doză de clovibactină a fost administrată la șoareci, intravenos, doză de până la 40 mg/kg, iar aceasta a fost bine tolerată [11].

Injectările intravenoase de clovibactină au fost, de asemenea, mai eficiente decât vancomicina intravenoasă în reducerea nivelurilor de *S. aureus* la șoarecii infectați cu această bacterie.

Deși nu au fost observate efecte secundare la șoareci, sunt necesare studii suplimentare pe oameni pentru a confirma eficiența antibioticului și pentru a evalua siguranța acestuia [23].

2. Noi metode de identificare a antibioticelor cu ajutorul tehnologiei AI

Inteligența artificială ar putea identifica următorul medicament în lupta împotriva super-bacteriilor. Pentru a crea noi antibiotice, cercetătorii localizează de obicei genele care conferă rezistență bacteriilor.

Prin experimente de laborator, aceștia analizează modul în care bacteriile reacționează la diverse antibiotice și caută mutații în structura lor genetică, care le permit să reziste tratamentului. Deși această abordare este eficientă, poate fi consumatoare de timp și nu surprinde întotdeauna întreaga complexitate a modului în care bacteriile devin rezistente.

De exemplu, modificările în funcționarea genelor, chiar și fără mutații, pot influența rezistența. De asemenea, bacteriile pot

transfera genele de rezistență între ele, un fenomen care poate fi trecut cu vederea atunci când se concentrează doar pe mutațiile dintr-o singură tulpină [1].

Identificarea rezistenței la antibiotice

Pentru a identifica genele implicate în rezistență, s-au studiat genomurile unor tulpini diferite de *E. coli*, căutând tipare și markeri genetici legați de rezistență. Apoi, s-au aplicat algoritmi de învățare automată, antrenați pe datele existente, pentru a descoperi gene noi sau mutații comune în tulpinile rezistente care ar putea favoriza apariția rezistenței [3].



Fig. 6. *E. coli*

Sursa: Hybrid medical animation / science photo library [47]

După identificarea genelor de rezistență, s-au conceput inhibitori care vizează în mod specific și blochează proteinele produse de aceste gene. Analizând structura proteinelor codificate de aceste gene, s-a reușit să se optimizeze inhibitorii pentru a se lega puternic de aceste proteine specific [2].

E. coli este o bacterie Gram-negativă, larg răspândită în mediul înconjurător și frecvent întâlnită în tractul gastrointestinal al oamenilor și al animalelor cu sânge cald.

Deși majoritatea tulpinilor sunt inofensive, anumite variante patogene au potențialul de a provoca diverse boli, de la infecții relativ simple ale tractului urinar până la infecții grave ale sângelui. Necesitatea urgentă de noi compuși terapeutici este evidențiată de creșterea bacteriilor multirezistente (MDR), care sunt rezistente la

diverse clase de antibiotice. Prin urmare, o studiere cuprinzătoare a bazei genetice a rezistenței la antibiotice în *E. coli* este esențială pentru avansarea medicamentelor antimicrobiene [38].

Tehnicile de secvențiere

Utilizarea secvențierii întregului genom – whole-genome sequencing (WGS) a ajutat semnificativ în procesul de a descifra structurile genetice ale agenților patogeni bacterieni, facilitând examinarea detaliată a genomurilor acestora cu o mare precizie. Prin clarificarea factorilor genetici care contribuie la rezistența la antibiotice, WGS permite identificarea genelor posibile ce pot fi vizate pentru suprimare.

În plus, genomica comparativă permite investigarea legăturilor evoluționare dintre tulpinile rezistente și cele sensibile, oferind informații despre mecanismele care stau la baza dobândirii și răspândirii rezistenței [12].

Genome annotations (anotări ale genomului): Acestea sunt etichetele atribuite diverselor secvențe din genomul bacterian, care indică funcțiile posibile ale genelor, regiuni de interes (de exemplu, gene de rezistență, enzime esențiale, etc.) și interacțiunile între diverse elemente genomice. Aceasta ajută la înțelegerea rolului fiecărei părți a genomului în procesele biologice ale bacteriei [21].

Subsystems (subsisteme): Se referă la grupuri funcționale de gene care sunt implicate în realizarea unor funcții biologice sau procese specifice. Aceste subsisteme includ, de exemplu, procesele de metabolism, sinteza proteinelor, repararea ADN-ului, etc. Analiza subsistemelor permite identificarea căilor metabolice și a proceselor biologice critice pentru supraviețuirea și virulența bacteriilor [7].

Scopul acestei tehnici este de a utiliza modelarea predictivă și metodologiile computaționale pentru a descoperi genele potențiale implicate în mecanismele de rezistență din genomul *E. coli*.

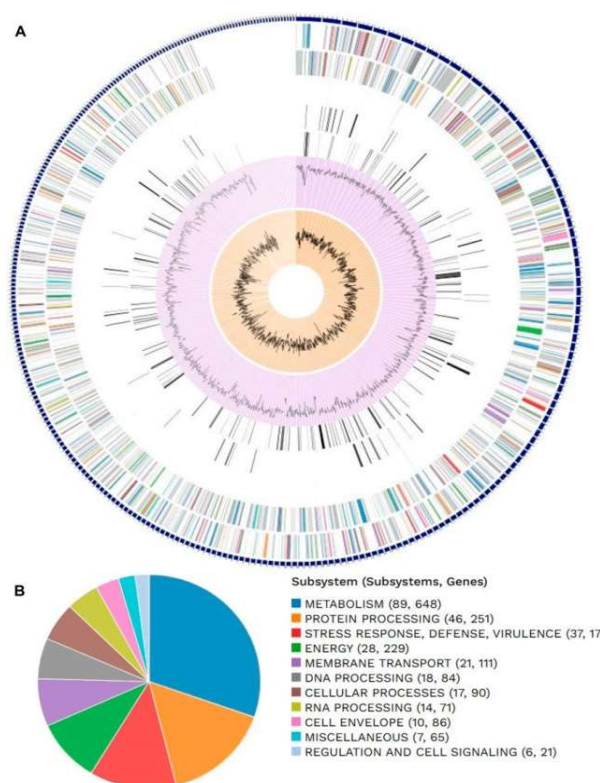


Fig. 7. Distribuțiile (A) al annotărilor genomului și (B) al subsistemelor în *Escherichia coli*.

Sursa: <https://www.frontiersin.org/journals/bioinformatics/articles/10.3389/fbinf.2024.1411935/full> [48]

Mai mult, metodologiile de screening in silico, precum docking-ul molecular, simulările de dinamică moleculară (MD) și profilarea ADMET, sunt utilizate pentru a dezvolta inhibitori de micromolecule care vizează în mod specific aceste gene potențiale. Scopul final al acestui demers este de a restabili capacitatea de a răspunde la terapia cu antibiotice [8].

Metodologia de screening in silico, se referă la utilizarea tehnologiilor computaționale și a simulărilor pentru a analiza și evalua potențialul biologic al unor substanțe chimice sau molecule înainte de a le testa experimental.

"*In silico*" provine din termenul latin "in silico", care înseamnă "în siliciu", referindu-se la utilizarea computerelor și simulărilor pe bază de date și algoritmi pentru a studia procesele biologice, chimice sau farmacologice [6].

În contextul descoperirii de noi medicamente sau a dezvoltării unor

tratamente, metodologia de screening in silico include mai multe tehnici și metode:

Docking molecular: Această tehnică presupune simularea interacțiunii dintre o moleculă (de obicei, o potențială substanță activă) și o țintă biologică, cum ar fi o proteină sau un receptor. Scopul este de a prezice modul în care molecula se va lega de ținta sa și de a evalua potențialul său de a inhiba sau modifica activitatea acesteia [10].

Simulări de dinamică moleculară (MD): Aceste simulări permit studiul comportamentului molecular pe termen lung, oferind informații despre modul în care moleculele se mișcă și interacționează într-un mediu simulat. În contextul cercetării medicamentelor, MD ajută la înțelegerea interacțiunilor între medicamente și proteinele țintă [14].

Profilarea ADMET: ADMET se referă la patru caracteristici esențiale ale unei substanțe chimice: absorbție, distribuție, metabolism, excreție și toxicitate. Profilarea

ADMET prevede cum o substanță va fi absorbită, distribuită, metabolizată și excretată în organism și dacă va prezenta efecte toxice. Aceasta ajută la selecția

substanțelor chimice promițătoare și la îmbunătățirea siguranței lor înainte de testele clinice [16].

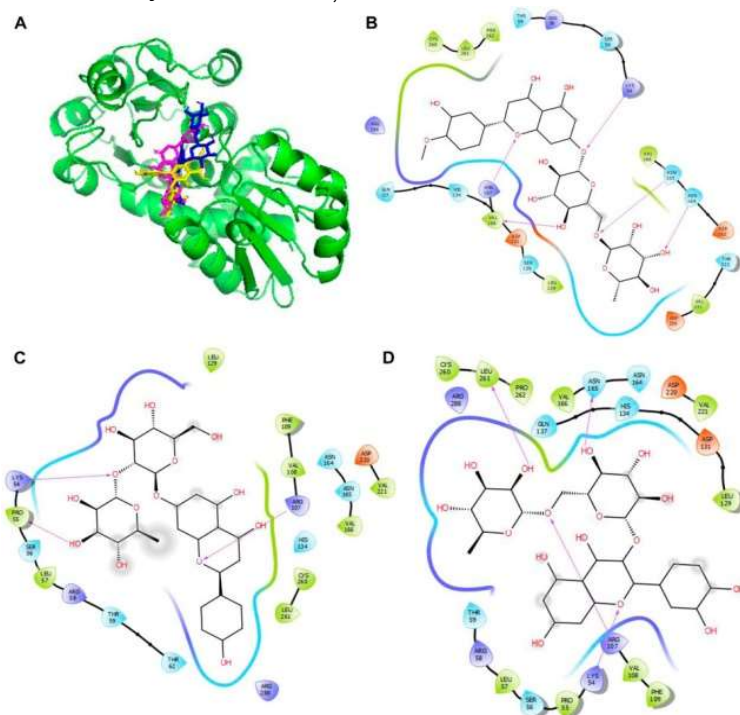


Fig. 8. Docking molecular al compușilor bioactivi în KatG din *E. coli*. (A) Pozițiile de legare 3D ale KatG (verde), hesperidină (albastru), naringină (mov) și rutină (galben) în cavitățile de legare ale KatG din *E. coli*. Analizele interacțiunilor moleculare 2D ale (B) hesperidinei, (C) naringinei și (D) rutinei cu reziduurile de aminoacizi din cavitățile de legare ale KatG din *E. coli*.

Sursa: <https://www.frontiersin.org/journals/bioinformatics/articles/10.3389/fbinf.2024.1411935/full> [49].

Aceste metode economisesc timp și resurse, reducând necesitatea testării experimentale pe scară largă, și permit cercetătorilor să identifice rapid candidați promițători pentru dezvoltarea de noi medicamente sau tratamente. De asemenea, ele pot fi folosite pentru a înțelege mai bine mecanismele moleculare ale bolilor și pentru a proiecta terapii mai eficiente.

Concluzii

În concluzie, în fața provocărilor tot mai mari generate de antibioretistență, direcțiile noi de cercetare se concentrează pe identificarea de noi ținte terapeutice și dezvoltarea de antibiotice inovative, care să acționeze prin mecanisme diferite față de tratamentele tradiționale.

Abordările precum utilizarea tehnologiilor de secvențiere a genomului, modelarea moleculară și screening-ul in silico au deschis noi oportunități pentru descoperirea unor compuși cu activitate antimicrobiană promițătoare, capabili să combată tulpinile rezistente. În paralel, studiile asupra bacteriilor greu cultivabile și investigarea unor mecanisme de acțiune necunoscute până acum, cum ar fi inhibarea unor precursori esențiali în sinteza peretelui celular, au adus progrese semnificative. Aceste progrese, alături de cercetările privind siguranța și eficiența noilor substanțe, pot deschide drumul pentru dezvoltarea unor tratamente mai eficiente și sustenabile în combaterea infecțiilor bacteriene, asigurându-se astfel protecția sănătății publice pe termen lung.

Bibliografie

1. **Bakan, A., Meireles, L.M., and Bahar, I.** (2011). ProDy: protein dynamics inferred from theory and experiments. *Bioinformatics* 27 (11), 1575–1577. doi:10.1093/bioinformatics/btr168.
2. **Bortolaia, V., Kaas, R.S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., et al.** (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *J. Antimicrob. Chemother.* 75 (12), 3491–3500. doi:10.1093/jac/dkaa345.
3. **Brettin, T., Davis, J.J., Disz, T., Edwards, R. A., Gerdes, S., Olsen, G.J., et al.** (2015). RASTtk: a modular and extensible implementation of the RAST algorithm for building custom annotation pipelines and annotating batches of genomes. *Sci. Rep.* 5 (1), 8365. doi: 10.1038/srep08365.
4. **Brötz, H. Bierbaum, G. Leopold, K.** The lantibiotic mersacidin inhibits peptidoglycan synthesis by targeting lipid II *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998; 42:154-160.
5. **Buerger, S. Spoering, A. Gavrish, E.** Microbial scout hypothesis, stochastic exit from dormancy, and the nature of slow growers *Appl. Environ. Microbiol.* 2012; 78:3221-3228.
6. **Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Voldby Larsen, M., Lund, O., Villa, L., et al.** (2014). In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58 (7), 3895–3903. doi:10.1128/AAC.02412-14.
7. **Cavasotto, C. N., Aucar, M. G., and Adler, N. S.** (2019). Computational chemistry in drug lead discovery and design. *Int. J. Quantum Chem.* 119 (2). doi:10.1002/qua.25678.
8. **Cheng, F., Li, W., Zhou, Y., Shen, J., Wu, Z., Liu, G., et al.** (2012). admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model* 52, 3099–3105. doi:10.1021/ci300367a.
9. **Cook, M.A. Wright, G.D.** The past, present, and future of antibiotics *Sci. Transl. Med.* 2022; 14, eabo7793.
10. **Dallakyan, S., and Olson, A. J.** (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods Mol. Biol.* 1263, 243–250. doi: 10.1007/978-1-4939-2269-7_19.
11. **Danilov, L.L. Druzhinina, T.N. Kalinchuk, N.A.** Polyprenyl phosphates: synthesis and structure-activity relationship for a biosynthetic system of *Salmonella anatum* O-specific polysaccharide *Chem. Phys. Lipids.* 1989; 51:191-203.
12. **Didelot, X., Méric, G., Falush, D., and Darling, A. E.** (2012). Impact of homologous and non-homologous recombination in the genomic evolution of *Escherichia coli*. *BMC Genomics* 13, 256. doi:10.1186/1471-2164-13-256.
13. **Fage, C.D. Lathouwers, T. Vanmeert, M.** The kalimantacin polyketide antibiotics inhibit fatty acid biosynthesis in *Staphylococcus aureus* by targeting the enoyl-acyl carrier protein Binding Site of FabI *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2020; 59:10549-10556.
14. **Grant, B. J., Skjærven, L., and Yao, X. Q.** (2021). The Bio3D packages for structural bioinformatics. *Protein Sci.* 30 (1), 20–30. doi:10.1002/pro.3923.
15. **Homma, T. Nuxoll, A. Gandt, A.B.** Dual targeting of cell wall precursors by teixobactin leads to cell lysis *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60:6510-6517.
16. **Hong, M.** Solid-state NMR studies of the structure, dynamics, and assembly of β -sheet membrane peptides and α -helical membrane proteins with antibiotic activities *Acc. Chem. Res.* 2006; 39:176-183.
17. **Hsu, S.-T.D. Breukink, E. Tischenko, E.** The nisin–lipid II complex reveals a pyrophosphate cage that provides a blueprint for novel antibiotics *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004; 11:963-967.
18. **Kunst, F. Ogasawara, N. Moszer, I.** The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis* *Nature.* 1997; 390:249-256.
19. **L.L. Ling et al.** A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*, 2015, 517, 455–459. <https://doi.org/10.1038/nature14098>.
20. **Lewis, K.** The science of antibiotic discovery *Cell.* 2020; 181:29-45.
21. **Love, M.I. Huber, W. Anders, S.** Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2 *Genome Biol.* 2014; 15, 550.
22. **Mahapatra, S. Scherman, H. Brennan, P.J.,** N glycosylation of the nucleotide precursors of

- peptidoglycan biosynthesis of *Mycobacterium* spp. is altered by drug treatment *J. Bacteriol.* 2005; 187:2341-2347.
23. **Medeiros-Silva, J. Jekhmane, S. Paioni, A.L.** High-resolution NMR studies of antibiotics in cellular membranes *Nat. Commun.* 2018; 9, 3963.
 24. **Miethke, M. Pieroni, M. Weber, T.** Towards the sustainable discovery and development of new antibiotics *Nat. Rev. Chem.* 2021; 5:726-749.
 25. **Münch, D. Sahl, H.-G.** Structural variations of the cell wall precursor lipid II in Gram-positive bacteria - impact on binding and efficacy of antimicrobial peptides *Biochim. Biophys. Acta.* 2015; 1848:3062-3071.
 26. **Nichols, D. Cahoon, N. Trakhtenberg, E.M.** Use of ichip for high-throughput in situ cultivation of "uncultivable" microbial species *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76:2445-2450.
 27. **Okonechnikov, K. Conesa, A. García-Alcalde, F.** Qualimap 2: advanced multi-sample quality control for high-throughput sequencing data *Bioinformatics.* 2016; 32:292-294.
 28. **Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., et al.** (2004). UCSF chimera-A visualization system for exploratory research and analysis. *J. Comput. Chem.* 25, 1605–1612. doi:10.1002/jcc.20084.
 29. **Rick, P.D. Hubbard, G.L. Kitaoka, M.** Characterization of the lipid-carrier involved in the synthesis of enterobacterial common antigen (ECA) and identification of a novel phosphoglyceride in a mutant of *Salmonella typhimurium* defective in ECA synthesis *Glycobiology.* 1998; 8:557-567.
 30. **Rouser, G. Fkeischer, S. Yamamoto, A.** Two dimensional thin layer chromatographic separation of polar lipids and determination of phospholipids by phosphorus analysis of spots *Lipids.* 1970; 5:494-496.
 31. **Sahl, H.G. Brandis, H.** Production, purification and chemical properties of an antistaphylococcal agent produced by *Staphylococcus epidermidis* *J. Gen. Microbiol.* 1981; 127:377-384.
 32. **Schneider, T. Senn, M.M. Berger-Bächi, B.** In vitro assembly of a complete, pentaglycine interpeptide bridge containing cell wall precursor (lipid II-Gly5) of *Staphylococcus aureus* *Mol. Microbiol.* 2004; 53:675-685.
 33. **Shukla, R. Lavore, F. Maity, S.** Teixobactin kills bacteria by a two-pronged attack on the cell envelope *Nature.* 2022; 608:390-396.
 34. **Shukla, R. Medeiros-Silva, J. Parmar, A.** Mode of action of teixobactins in cellular membranes *Nat. Commun.* 2020; 11, 2848.
 35. **Shukla, Rhythm et al.** An antibiotic from an uncultured bacterium binds to an immutable target. *Cell*, Volume 186, Issue 19, 4059 - 4073.e27.
 36. **Silver, L.L.** Multi-targeting by monotherapeutic antibacterials *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007; 6:41-55.
 37. **Strahl, H. Hamoen, L.W.** Membrane potential is important for bacterial cell division *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107:12281-12286.
 38. **Umbreit, J.N. Strominger, J.L.** Isolation of the lipid intermediate in peptidoglycan biosynthesis from *Escherichia coli* *J. Bacteriol.* 1972; 112:1306-1309.
 39. **Wang, Y. Jardetzky, O.** Probability-based protein secondary structure identification using combined NMR chemical-shift data *Protein Sci.* 2002; 11:852-861.
 40. **Wilson, M.C. Mori, T. Rückert, C.** An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire *Nature.* 2014; 506:58-62.
 41. **Wirtz, D.A. Ludwig, K.C. Arts, M.** Biosynthesis and mechanism of action of the cell wall targeting antibiotic hyeptein *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2021; 60:13579-13586.
 42. **William F,** Northeastern University https://www.researchgate.net/figure/The-mechanism-of-action-of-different-types-of-antibiotics-Antibacterial-action-generally_fig4_315925913
 43. <https://www.sciencephoto.com/media/642105/view/teixobactin-antibiotic-formula>
 44. <https://www.the-chemistry-editor.com/post/unearthing-clovibactin-a-breakthrough-depsipeptide-antibiotic-defying-drug-resistance>
 45. Onlineacademiccommunity.uvic.ca
 46. Hybrid medical animation/science photo library
 47. <https://www.frontiersin.org/journals/bioinformatics/articles/10.3389/fbinf.2024.1411935/full>
 48. <https://www.frontiersin.org/journals/bioinformatics/articles/10.3389/fbinf.2024.1411935/full>