РЕСПИРАТОРНИ ИНФЕКЦИИ, БАКТЕРИАЛНА РЕЗИСТЕНТНОСТ И ЛЕЧЕНИЕ С β -ЛАКТАМНИ АНТИБИОТИЦИ

К. Янков

*Клиника по белодробни болести,
МБАЛ „Св Марина” - Варна, Медицински
университет - Варна*

РЕЗЮМЕ

β -лактамните антибиотици са най-голямата антибиотична група, поради което бактериалната резистентност срещу тях има водещо значение в антибактериалната терапия. Четири са механизмите на β -лактамна резистентност, като два: промени в пеницилинсвързващите протеини (ПСП) и производство на β -лактамази са основни. Лечението на инфекциите, причинени от резистентни щамове се води с нови прдими не- бета-лактамни антибиотични средства, но бактериите бързо развиват резистентни механизми към тях. Особено остър е проблемът с грам отрицателните бактерии, срещу които липсва достатъчно широк набор от антибиотици. Резистентността непрекъснато еволюира. Това се отнася както за грам положителните, така и за грам отрицателните бактерии. Сега разпространението на придобитите в обществото метицилин резистентни стафилококи (MRSA) и щамове, произвеждащи широкоспектрни β -лактамази, както и карбапенемази буди силна тревога и е причина за мрачни прогнози. Причините за явлението бактериална резистентност са разнообразни, като борбата с него е с ниска ефективност.

Ключови думи: респираторни инфекции, бактериална резистентност, β -лактамни антибиотици

Откриването на антибиотиците е едно от чудесата на XX век. Те действително промениха образа на съвременната медицина. Подобно на редица други медикаменти, като антидиабетни средства, химиотерапевтици и др., успешното им приложение води до развитие на толеранс и резистентност, което намалява тяхната ефективност или обезсмисля приложението им. Бактериалната резистентност към антибиотични средства е била винаги част от антибактериалните им ефекти. Още с откриването на сулфонамидите

RESPIRATORY INFECTIONS, BACTERIAL RESISTANCE AND THERAPY WITH β -LACTAM ANTIBIOTICS

K. Yankov

*Clinic of pulmonary diseases, St. Marina university
hospital of Varna*

ABSTRACT

β -lactam antibiotics are the largest antibiotic group, so bacterial resistance against them has a pivotal role in the antibacterial therapy. There are four mechanisms for beta-lactam resistance from which two: the changes in penicillin-binding proteins (PBPs) and the synthesis of beta-lactamase enzymes are the main. The treatment of the infections, caused by resistant strains is carried out by new non-beta lactams but the bacteria develop resistance to them fast. This problem is especially important with Gram (-) bacteria because effective antibiotics against them are scarce. The bacterial resistance constantly evolves. The spread of community-acquired MRSA as well as bacterial strains producing ESBL and carbapenemase is very alarming. There is a wide variety of causes for the bacterial resistance but the fight against this phenomenon is not very efficient.

Keywords: respiratory infections, bacterial resistance, beta-lactam antibiotics

The discovery of antibiotics is one of the wonders of the 20th century. They actually changed the image of contemporary medicine. Along with a series of other drugs, such as anti-diabetic agents, chemotherapeutic agents, etc., their successful application leads to development of tolerance and resistance which reduces their effectiveness or obsoletes their application. Bacterial resistance to antibiotics has always been a part of their antibacterial effects. With the discovery of sulfonamides in 1937, the first mechanisms of bacterial resistance were established. Penicillin, discovered by Alexander Fleming in 1928, was introduced into clinical practice 12 years later – in 1940. Two years earlier, the first isolated beta-lactamase that degrades the antibiotic molecule was isolated. It has been derived from an *E. coli*, Gram(-) microorganism, so at that time it was believed that it had no relation to the one and only antibiotic effective against Gram (+) bacteria. Since then, knowledge on bacterial resistance has evolved greatly and now there are over 20 000 known genes

през 1937 г. са установени и първите механизми на бактериална резистентност. Пеницилинът, открит от Александър Флеминг през 1928 г. е бил въведен в клиничната практика дванадесет години по-късно - през 1940 г. Две години преди това е била изолирана първата β -лактамаза разграждаща антибиотичната молекула. Тя е била извлечена от *E coli* - грам отрицателен микроорганизъм, поради което по това време се е смятало, че тя няма отношение към единствения по това време антибиотик, ефективен единствено срещу грам положителни бактерии. Оттогава познанията за бактериалната резистентност са се развили изключително много и сега са познати над 20 хиляди гени, кодиращи бактериална резистентност. Основен фактор за развитието на резистентност е времето, през което антибактериалното средство е на фармацевтичния пазар. Колкото по-продължително един антибиотик е в употреба, толкова повече са резистентните щамове към него. За съжаление почти всички познати антибиотични групи са открити през 50-те и 60-те години на миналия век. Единствено флуорохинолоните са синтезирани в края на 70-те и началото на 80-те. Оксазолидиноните (Linezolid) са единствената антибактериална лекарствена група, открита през последните 30 години. Всичко това, както и слабия интерес от страна на фармацевтичната индустрия към синтез на нови антибактериални молекули прави бактериалната резистентност доминиращ проблем при антибиотичната терапия.

Бета-лактамите (БЛ) са най-голямата антибиотична група. Потазипричина бактериалната резистентност към тези медикаменти е от централно значение. Механизмите, с които бактериите стават резистентни към БЛ са четири:

1. Промяна в структурата на ПСП;
2. Синтез на β -лактамази;
3. Намалена експресия на външни мембранни протеини;
4. Ефлуксни помпи.

Един от двата най-важни механизми на бактериална резистентност към БЛ е свързан с основния механизъм на антибиотично действие върху бактериалната клетка. Всички антибиотици с β -лактамно ядро нарушават синтеза на бактериалната клетъчна стена чрез свързване с ПСП, важни транспептидази участващи в протеинглицановата синтеза на стената. Нормалните бактерии притежават единични, неразклонени ПСП. Резистентните бактерии синтезират белтъци с разклонени вериги,

encoding bacterial resistance.

The main factor for the development of resistance is the duration for which the antibacterial agent is on the pharmaceutical market. The longer one antibiotic is in use, the more the strains resistant to it. Unfortunately, almost all known antibiotic groups were found in the 50's and 60's of the last century. Only fluoroquinolones were synthesized in the late 70's and the beginning of the 80's. Oxazolidinones (Linezolid), for example, is the first and only new antibacterial drug group for the last 30 years. All that, along with the low interest from the pharmaceutical industry to produce new antibacterial molecules, turns bacterial resistance into a dominant problem in antibiotic therapy.

Beta-lactams (BL) are the largest group of antibiotics. Therefore, bacterial resistance to these drugs is of central importance. The mechanisms by which bacteria become resistant to BL are four:

1. Change in the PBPs;
2. Synthesis of beta-lactamases;
3. Reduced expression of outer membrane proteins;
4. Efflux pumps.

One of the two most important mechanisms of bacterial resistance to BL is connected to the basic mechanism of antibiotic action on the bacterial cell. All antibiotics with a beta-lactam nucleus obstruct the synthesis of the bacterial cell wall by binding to PBPs, important transpeptidases taking part in the proteoglycan synthesis of the wall. Normal bacteria have single, unbranched PBPs. Resistant bacteria synthesize branched-chain proteins which bind the antibiotics and prevent the inactivation of the enzyme. Another mechanism of bacterial resistance is a rapid re-synthesis of transpeptidases. Inactivation of PBPs is a mechanism of resistance mainly for Gram (+) bacteria.

Staphylococci normally produce four types of PBPs anchored in the bacterial membrane. They all have a very high affinity for beta-lactams, which is why these are the antibiotics of choice for treatment of infections caused by these bacteria (7). In 1961, first in England and a little later in 1968 in the U.S, the first bacteria carrying the mucopeptidase PBP2A resistant to antibiotic action were isolated. The PBP2A protein is encoded by the *mecA* gene located in a staphylococcal cassette chromosome (SCC*mec*). Staphylococci, which carry this gene are resistant to methicillin and oxacillin and are therefore known as methicillin resistant staphylococci (MRSA). Originally spread from one "archaic" branch, currently MRSA strains originate from five clonal lines. The clinical significance of these bacteria is

които свързват антибиотиците и не позволяват инактивирането на ензима. Друг механизъм на бактериална резистентност е ускорен ресинтез на транспептидази. Инактивирането на ПСП е механизъм на резистентност, характерен предимно за грам положителни бактерии.

Стафилококите нормално произвеждат четири вида ПСП, закотвени в бактериалната мембрана. Всички те са с много висок афинитет към β -лактамите, поради което това са предпочитан избор при лечението на инфекциите, причинени от стафилококи (7). През 1961 година за първи път в Англия и малко по-късно през 1968 г. в САЩ са изолирани първите бактерии, носещи муропептидазата ПСП2а устойчива на антибиотично въздействие. Белтъкът ПСП2а се кодира от гена *MecA*, намиращ се в една хромозомна касета *SCC*. Стафилококите, носители на този ген са устойчиви на метицилин и оксацилин, поради което са известни под името метицилин резистентни стафилококи (MRSA). Първоначално разпространили се от един „архаичен“ клон, понастоящем MRSA щамове произхождат от 5 клонални линии. Клиничното значение на тези бактерии е огромно. Това са вътреболнични щамове, причиняващи 51.6% от предизвиканите от стафилококи инфекции в ИО и 42% от тези в общите болнични отделения. Лечението на инфекциите, причинени от тях се провежда с не- бета-лактамни антибиотици като гликопептиди (Vancomycin, Teicoplanin), оксазолидинони (Linezolid), Synercid. Отговорът на бактериите обаче не е закъснял и вече са изолирани на много места по света ванкомицин-интермедиери и ванкомицин резистентни стафилококови щамове (VISA, VRSA).

През 90-те години на миналия век за първи път беше изолирана една нова стафилококова популация, устойчива на оксацилин, но различна от познатите MRSA щамове. Тези бактерии са намерени в хора, които не са били в контакт с болничната система, поради което са наречени придобити в обществото MRSA (CA MRSA). Те притежават редица разлики от нозокомиалните MRSA (HA MRSA) (Табл. 1). CA MRSA е всяка MRSA инфекция, диагностицирана в амбулатория или до 48-я час от хоспитализацията на пациент, който няма следните рискови фактори за HA MRSA - хемодиализа, хирургия, хоспитализация през предходната година, наличие на катетри или перкутанни устройства по време на изследването или предходно изолиране на MRSA от пациента. MRSA причиняват разнообразни неинвазивни и

immense. They are nosocomial strains causing 51.6% of infections caused by staphylococci in ICU and 42% of those in the general wards. Treatment of infections caused by them is conducted with non-beta lactam antibiotics such as glycopeptides (Vancomycin, Teicoplanin), oxazolidinones (Linezolid), Synercid. But bacteria have already responded - in many parts of the world vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant staphylococcal strains (VISA, VRSA) have been isolated.

During the 90s, a new staphylococcal oxacillin resistant population different from already known MRSA strains was isolated for the first time. These bacteria were found in people who have not been in contact with the hospital system, and therefore they were called community-acquired MRSA (CA MRSA). They have a number of differences from nosocomial MRSA (HA MRSA) (Tabl.1) and are defined as: any MRSA infection diagnosed in a clinic or during the 48 hours of the hospitalization of a patient having none of the following risk factors for HA MRSA: hemodialysis, surgery, hospitalization in the previous year, presence of catheters or percutaneous devices during examination or previous isolation of MRSA from the patient.

MRSA cause various noninvasive and invasive infections. Antibiotics of choice for the treatment of noninvasive, mainly skin infections, are clindamycin and TMP-SMZ (Biseptol) tetracyclines. Quinolones should be avoided due to ineffectiveness of earlier representatives and rapidly growing resistance.

For the treatment of invasive infections – necrotic pneumonia, osteomyelitis, bloodstream infections – the preferred drugs are glycopeptide antibiotics. Vancomycin is a quite old antibiotic, introduced into clinical practice in the 60's. It has poor pharmacokinetic parameters – poor penetration into the lung tissue, so subdosage is a problem, and it has significant side effects. Some of these drawbacks are not present with teicoplanin. Streptococci produce various enzymes and endotoxins such as alpha toxin, leukocidin, toxic shock protein, which increase with subinhibitory antibiotic concentrations. Supporters of the toxic theory recommend combined application of glycopeptides with antibiotics suppressing protein secretion – clindamycin and linezolid, aiming at inhibiting the synthesis of these proteins and preventing systemic inflammation.

Daptomycin is highly effective against staphylococci, but not recommended for the treatment of pulmonary infections, because it is inactivated by the surfactant. The optimal antibiotic in these cases, due to its excellent penetration in lung tissue, is linezolid.

Таблица 1. HA MRSA И CA MRSA - сравнителни характеристики

HA MRSA	CA MRSA
Молекулярни различия	
Голяма хромозомна касета с mec A ген	Малка хромозомна касета с mecA ген
Рядко носят ген PVL	Винаги носят ген PVL
Резистентни са на много не бета лактамни АБ	Резистентни са на по-малко небеталактамни
Клинични различия	
Възрастни пациенти, коморбидитет	Млади пациенти
Пневмония, бактериемия, инвазивни инфекции	Некротична пневмония и тежък сепсис

инвазивни инфекции.

За лечение на неинвазивните, предимно кожни инфекции, възможностите за избор на антибиотици са клиндамицин, ТМП/СМЗ (Biseptol) тетрациклините. Хинолоните трябва да се избягват поради неефективност на по-ранните представители, както и поради бързо развиваща се резистентност.

За лечение на инвазивните инфекции – некротични пневмонии, остеомиелити, кръвни инфекции, предпочитано средство са гликопептидните антибиотици. Ванкомицинът е доста стар антибиотик, въведен в клиничната практика още през 60-те години. Той притежава значими странични ефекти и е с незадоволителни фармакокинетични показатели (лоша пенетрация в белодробната тъкан), поради което субдозирането представлява голям проблем. Някои от тези недостатъци липсват при тейкопланина. Стрептококите произвеждат разнообразни ензими и ендотоксини като α токсин, левкоцидин, токсичен шок протеин, които се увеличават при субинхибиторни антибиотични концентрации. Привържениците на токсичната теория препоръчват комбинирано прилагане на гликопептидите с антибиотици, потискащи протеиновата секреция – клиндамицин и линезолид, като се цели инхибиране на синтеза на тези белтъци и предотвратяване на системното възпаление.

Даптомицинът е високо ефективен срещу стафилококите, но не се препоръчва при лечение на белодробните инфекции, поради това, че се инактивира от сурфактанта. Оптимален антибиотик в тези случаи е линезолида, поради отличната му пенетрация в белодробната тъкан. Тигецилинът, сравнително нов тетрациклинов антибиотик, също е високо ефективен срещу проблемните стафилококови щамове. Стрептограмините (Synercid) са с ограничено

Tigecycline, a relatively new tetracycline antibiotic, is also highly effective against the problematic staphylococcal strains. Streptogramins (Synercid) have quite a lot of adverse effects and therefore have limited use. Four new cephalosporins with a very high affinity to PBP2 are under development. From these only ceftobiprole, which according to some classifications is a fifth-generation cephalosporin, is in clinical trials. Dalbavancin, Telavancin, Oritavirin are new glycopeptide antibiotics with improved pharmacokinetics and pharmacodynamics.

The production of enzymes which destroy the BL molecule is the most important mechanism for developing resistance to BL antibiotics. The first beta-lactamase was isolated from the E. coli two years before the introduction of penicillin into clinical practice. Four years later a similar penicillin inactivator was isolated from staphylococci and now about 850 different beta-lactamase molecules are known. Their classification is based on their functional characteristics and their structure (9).

Members of the Enterobacteriaceae family often possess plasmid-mediated resistance to penicillin, but not to extended-spectrum cephalosporins. In the 80s, first in Germany, a new group of enzymes was found – extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), which are predominantly synthesized from Klebsiella, E. coli and Proteus. They hydrolyze molecules of extended-spectrum cephalosporins with oxyimino side chains as well as the molecule of the oxyimino-monobactam aztreonam. This group includes such popular antibiotics as cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidime, which are the basic drugs for the treatment of these problematic Gram (-) microorganisms. Often these bacteria are also carriers of resistance to other antibiotic groups such as aminoglycosides, which narrows down the therapeutic possibilities in the treatment of infections caused by them. Currently the ESBL-producing strains are widespread in all hospital wards, especially

приложение, поради странични ефекти, които предизвикват. В процес на разработка са четири нови цефалоспорици с много висок афинитет към PBP2. От тях единствено цефтобипролът, който в някои класификации се води като пета генерация цефалоспорин, е в клинични изпитания. Dalbavancin, Telavancin, Oritavon са нови гликопептидни антибиотици с подобрена фармакокинетика и фармакодинамика.

Продукцията на ензими разрушаващи β -лактамна-та молекула е най-важния механизъм за развитие на резистентност към β -лактамни антибиотици. Първата β -лактамаза е изолирана от *E. coli* две години преди въвеждането на пеницилина в клиничната практика. Четири години по-късно е изолиран подобен пеницилин инактиватор от стафилококи и сега са познати около 850 различни β -лактамазни молекули. Класификацията им се базира на техните функционални характеристики или на тяхната структура (9).

Членовете на сем. *Enterobacteriaceae* често притежават плазмид-медирана резистентност срещу пенецилини, но не и срещу широкоспек-търни цефалоспорици. През 80-те години за първи път в Германия, са намерени една нова група ензими – широкоспектърни β -лактамази (ESBL), които се синтезират в големия си процент от *Klebsiella*, *E. coli*, *Proteus*. Те хидролизират молекулите на широкоспектърни цефалоспорици с оксиминови странични вериги, както и молекулата на оксиминомонобактама азтреонам. Към тази група спадат такива популярни антибиотици като cefotaxim, ceftriaxon, ceftazidime, които са базисни средства за лечението на тези проблемни грам отрицателни микроорганизми. Често пъти тези бактерии са носители и на резистентност към други антибиотични групи, като аминогликозиди, което стеснява значително терапевтичните възможности при лечение на инфекциите, причинени от тях. Понастоящем ESBL продуциращите щамове са широко разпространени във всички болнични отделения, особено интензивните, и са чести, предимно нозокомиални патогени.

Широкоспектърните β -лактамази (ESBL) са продукт на селективния антибиотичен натиск върху бактериалните популации. Те обаче бързо се разпространяват по света в резултат на трансграничното движение на големи групи от хора. Основен техен източник са страните със занижен инфекциозен контрол. В едно проучване, проведено в Швеция са били изследвани 100 здрави лица, пътували до различни краища на

in the ICU, and are common, primarily nosocomial pathogens.

Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) are a product of the selective antibiotic pressure on bacterial populations. However, they quickly spread around the world as a result of cross-border movement of large groups of people. Their main source are countries with lowered infection control. In a study conducted in Sweden 100 healthy subjects were examined, who have traveled to different parts of the world (2). After their return 24 of them were carriers of ESBL-producing *E. coli*. All of them have traveled to Asian countries, predominantly India (7 out of 8 travelers).

The cornerstone in the treatment of infections caused by ESBL-producing bacteria are carbapenems. Imipenem and meropenem are the first choice antibiotics in all manuals. Their alternatives are aminoglycosides, ciprofloxacin, co-amoxiclav and fosfomycin. With very high efficiency is the newest tetracycline antibiotic Tigecycline, created to treat highly-resistant bacterial strains. Over 90% of ESBL-producing *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp. are sensitive to it according to the American FDA and European EUCAST criteria.

From what has been said so far, it becomes clear that against the growing epidemic of ESBL strains, carbapenems play the leading role. They are the main and most important agent to fight these problematic organisms. That is why the first carbapenemase isolated in 1993, again from the *Enterobacteriaceae* family, caused justified concerns worldwide (1). Since then, multiple enzymes belonging to the three classes of Ambler beta-lactamases A, B and D were found. Some of them are chromosomally encoded, while others are plasmid-mediated. All successfully cleave the carbapenem ring and are only partially inactivated by clavulanic acid. With greatest significance and spread is the K pneumoniae carbapenemase (KPC) which is plasmid-encoded and belongs to class A beta-lactamases. In rare cases it is isolated from *E. coli* (5).

Multiple enzymes belong to Class B – metallo beta-lactamases (3). Recently the attention of the entire medical community is focused on the New Delhi enzyme beta-lactamase (NDM 1), first discovered in Sweden in 2008 in an Indian man, pretreated in India. The enzyme was isolated in large numbers of patients in 13 countries, mostly related to India and Pakistan. In 54% of cases we have K pneumoniae strains. The plasmid particle carrying the gene, carries at the same time a large number of genes having a resistance to aminoglycosides, macrolides and rifampin, making

света (2). След завръщането си 24 от тях са били носители на ESBL продуциращи *E. coli*. Всички те са пътували до азиатски страни, най-често Индия (7 от 8 пътуващи).

Крайъгълният камък при лечението на инфекциите, причинени от бактерии, продуциращи широкоспектърни β -лактамази са карбапенемите. В тези случаи имипенемът и меропенемът са предпочитани антибиотици във всички ръководства. Тяхна алтернатива са аминогликозидите ципрофлоксацина, ко-амоксиклав, фосфомицин. С много висока ефективност е и най-новия тетрациклин антибиотик Tigecyclin, създаден за лечение на високорезистентни бактериални щамове. Чувствителност към него, според американските критерии на FDA и европейските EUCAST, проявяват над 90% от ESBL продуциращите *E. coli*, *Klebsiella spp* и *Enterobacter spp*.

От казаното дотук става ясно, че на фона на разрастващата се епидемия от ESBL щамове ролята на карбапенемите е водеща. Те са основното и най-важно средство за борба с тези проблемни микроорганизми. Затова изолираната през 1993 г, отново от сем. *Enterobacteriaceae*, първа карабапенемаза е предизвикала основателна тревога навсякъде по света (1). Оттогава са намерени множество ензими, принадлежащи към три от класовете на Ambler β -лактамази A, B и D. Някои от тях са хромозомно кодирани, други са плазмид-медиирани. Всички те успешно разцепват карбапенемния пръстен и само частично се инактивират от клавуланова киселина. С най-голямо значение и широко разпространение от тях е *Klebsiella pneumoniae* карбапенемазата (KPC), която е плазмидно кодирана и принадлежи към клас A β -лактамази. В редки случаи тя се изолира и от *E. coli* (5).

Към клас B – метало β -лактамази, принадлежат множество ензими (3). Сега вниманието на цялата медицинска общност е фокусирано върху ензима New Delhi бета-лактамаза (NDM1) открита за първи път в Швеция през 2008 г. в индиец, лекуван преди това в Индия. Ензимът е изолиран в голям брой пациенти в 13 страни, повечето свързани с Индия и Пакистан. В 54% от случаите се касе за щамове *Klebsiella pneumoniae*. Плазмидната частичка, носеща гена е носителка същевременно на голям брой гени притежаващи резистентност към аминогликозиди, макролиди, рифампин, което прави бактериалните щамове мулти- и дори пан-резистентни. Тревогата от тази много бързо разпространяваща се резистентност

bacterial strains multi- and even pan-resistant. Concerns about this rapidly spreading resistance are so great that now the question is whether this is not the end of the antibiotic era (8). In our country this bacterial strain has not been isolated yet, but the cited article mentions the Balkans – Serbia, Kosovo and Montenegro as a secondary reservoir of bacteria carrying this resistance, which makes its appearance in our country a matter of time.

Drug options to treat infections caused by bacteria carrying carbapenemases are very limited. Unlike the problematic Gram (+) bacterial strains against which there is a relatively wide range of antibacterial agents, the antibiotic selection against the problematic Gram (-) bacteria is rather scarce (4). In a meta-analysis of 15 studies by Hirsh, tigecycline and aminoglycosides were in most cases the first choice, showing, particularly when administered in combination, a satisfactory effect. Because of the absence of an antibiotic selection for these infections we talk about a renaissance of polymyxins. Their high toxicity, however, is a serious limiting factor. The last two mechanisms of bacterial resistance to beta-lactam antibiotics are significantly less effective, play a minor role and are often combined with one of the other types of resistance.

The Gram (-) bacteria are wrapped by two membranes – an outer and inner, separated from each other by a thin periplasm layer, composed of proteoglycans. The outer membrane performs barrier functions, preserving the bacteria from harmful substances, such as antibiotics and bile salts. Nutrients pass through this barrier by means of a class of proteins known as outer membrane proteins or porins. They form channels that contain water. To reach their target – the protein-binding proteins located on the inner membrane, BL antibiotics have to pass through those channels. Some *Enterobacteriaceae* – *Klebsiella*, *E. Coli* develop resistance to carbapenems by loss of these porins. Point mutations may cause production of proteins with decreased functional activity, thus reducing the antibiotic penetration. This mechanism of resistance is however not sufficient and it is often combined with production of beta-lactamases.

The bacterial TolC protein forms trans-periplasmic tunnels in the outer bacterial membrane (10). They act as efflux pumps, as they ensure broad access of proteins and other substances including antibacterial drugs. This is an important mechanism of bacterial resistance to tetracyclines, fluoroquinolones, aminoglycosides. It is developed in many Gram (-) bacteria, which have the ability to remove the AB molecules which have reached the periplasm. The

е толкова голяма, че вече се поставя въпроса дали това не е края на антибиотичната ера (8). В нашата страна такъв бактериален щам все още не е изолиран, но в цитираната статия се споменава Балканския регион - Сърбия, Косово, Черна гора като вторичен резервоар на бактерии, носещи тази резистентност, което прави появата му у нас въпрос на време.

Възможностите за лечение на инфекции, причинени от бактерии, носители на карбапенемази са много ограничени. За разлика от проблемните грамположителни бактериални щамове срещу които разполагаме със сравнително широк набор антибактериални средства антибиотичният набор срещу проблемните грамотрицателни бактерии е доста оскъден (4). В един метаанализ на Hirsh, анализиращ 15 проучвания тигециклинът и аминогликозидите са били в повечето случаи средство на първи избор, показвайки задоволителен ефект, особено приложени в комбинация. Поради липсата на антибиотичен избор при тези инфекции се говори за ренесанс на полимиксините. Голямата им токсичност обаче е сериозен лимитиращ фактор. Последните два механизма на бактериална резистентност към β -лактамните антибиотици са значително по-неефективни, играят второстепенна роля и често пъти се съчетават с някой от другите видове резистентност.

Грамотрицателните бактерии са обвити от външна и вътрешна мембрани, отделени една от друга с тънък слой периплазма, изградена от протеоглики. Външната мембрана изпълнява бариерни функции, пазейки бактерията от вредни субстанции като антибиотици, жлъчни соли. Нутриентите преминават през тази бариера посредством един клас белтъци, наречени външни мембранни белтъци или порини. Те образуват съдържащи вода канали. За да достигнат до тяхната цел – протеин-свързващите белтъци, разположени по вътрешната мембрана, β -лактамните антибиотици трябва да преминат през тези канали. Някои Enterobacteriaceae - *Klebsiella*, *E. coli* развиват резистентност към карбапеними чрез загуба на тези порини. Точкови мутации могат да причинят продукция на протеини с намалена функционална активност, като по този начин понижават проникването на антибиотиците. Този механизъм на резистентност обаче не е достатъчен и той често се съчетава с продукция на бета-лактамази.

Бактериалният протеин TolC образува транспериплазматични тунели във външната

resistance of *P. aeruginosa* to multiple carbapenems is strengthened e.g. by the overproduction of the efflux pumps (6). This resistance is often combined with the overproduction of beta-lactamases or by reducing the permeability of the outer membrane proteins. The fight against this resistance is carried out in two directions; by a change in the structure of the antibiotic that would not allow its recognition by the transport proteins (tigecyclin) and by the development of inhibitors of the efflux pumps.

CONCLUSIONS

- The development of resistance is the most serious consequence of the AB treatment, often making their use pointless.
- In the developing countries the use of antibiotics is uncontrolled. The imported ABs are cheap, allowing their wide use and are of unknown purity and authenticity.
- Creating a new antibiotic is extremely expensive and the duration of application is short, which is why pharmaceutical companies are losing interest.
- Regarding clinical efficiency, modifications in the molecules are made which make them resistant to resistance. These changes, however, decrease bactericidal efficiency. Creating stable antibacterial molecules is not a very effective approach, used only to buy time, which only postpones but does not solve the problem.
- Bacterial resistance evolves and spreads rapidly, especially the plasmid-mediated one, which is often a carrier of various strains resistant to multiple AB agents.
- Some approaches to fight resistance, as are the strongly recommended cyclical modes – the temporary removal of some AB from application, also proved ineffective. After removing the antibiotic, the resistance is not completely removed, and soon after the inclusion of the AB to medical schemes it quickly reaches the previous levels.
- The control over the prescribed antibiotics and limiting their use eliminates the most important mechanism of development of resistance – the selective antibiotic pressure on bacterial populations is the most effective approach to fight bacterial resistance.

Address for correspondence:

Assoc Prof Kamen Yankov
Department of pulmonology, St. Marina university Hospital
1 Hr Smirnenki str., 9010 Varna
+359 889 854 872

бактериална мембрана (10). Те действат като ефлуксни помпи, като през тях се осигурява широк излаз на протеини и други субстанции включително антибактериални медикаменти. Това е важен механизъм за бактериална резистентност към тетрациклини, флуорохинолони, аминогликозиди. Той е развит при много грамотрицателни бактерии, които имат способността да отстраняват АБ молекули, стигнали до периплазмата. Резистентността на *P. aeruginosa* към множество карбапеними се засилва от свръхпродукцията на ефлуксните помпи (6). Тази резистентност често се съчетава със свръхпродукция на β -лактамази или с намаляване пермеабилитета на външните мембранни протеини. Борбата с тази резистентност се осъществява в две направления - промяна в структурата на антибиотика, непозволяваща разпознаването му от транспортните протеини (тиглециклина) и разработване на инхибитори на ефлуксните помпи.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Развитие на резистентност е най-сериозната последица на антибиотично лечение, обезмисляща често пъти приложението им.
- В развиващите се страни антибиотичната употреба е неконтролирана. Антибиотиците, които се изнасят в тези страни са евтини и с неясна чистота и автентичност, което позволява широката им употреба.
- Създаването на нов антибиотик е изключително скъпо, а продължителността на приложение кратко, поради което фармацевтичните компании губят интерес към тази дейност.
- С оглед клиничната ефективност се извършват модификации в молекулите, които ги правят устойчиви на резистентност. Тези промени намаляват бактерицидната им ефективност, което прави създаването на устойчиви антибактериални молекули не особено ефективен подход, чрез който се постига отлагане, но не и решаване проблема.
- Бактериалната резистентност еволюира и се разпространява бързо, особено плазмид-медираната, която често е носител на разнообразна резистентност към множество антибиотични средства.
- Някои подходи за борба с резистентността, като горещо препоръчаните циклични режими - временното отстраняване на някои антибиотици от употреба, също се е оказало

REFERENCES

1. André Birgy, Philippe Bidet, Nathalie Genel, Catherine Doit, Dominique Decré, Guillaume Arlet, and Edouard Bingen Phenotypic Screening of Carbapenemases and Associated β -Lactamases in Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.*, 2012; 50: 1295-1302.
2. Åse Östholm-Balkhed, Maria Tärnberg, Maud Nilsson, Lennart E. Nilsson, Håkan Hanberger, Anita Hällgren on behalf of the Travel Study Group of Southeast Sweden Travel-associated faecal colonization with ESBL-producing Enterobacteriaceae: incidence and risk factors *J. Antimicrob. Chemother.*, 2013; 10.1093.
3. Dylan R. Pillai, Allison McGeer, and Donald E. Low New Delhi metallo- β -lactamase-1 in Enterobacteriaceae: emerging resistance. *Can. Med. Assoc. J.*, 2011; 183: 59-64.
4. Fredrik Resman, Mikael Ristovski, Arne Forsgren, Bertil Kaijser, Göran Kronvall, Patrik Medstrand, Eva Melander, Inga Odenholt, and Kristian Riesbeck Increase of β -Lactam-Resistant Invasive Haemophilus influenzae in Sweden, 1997 to 2010 *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2012; 56: 4408-4415.
5. Krisztina M. Papp-Wallace, Christopher R. Bethel, Anne M. Distler, Courtney Kasuboski, Magdalena Taracila, and Robert A. Bonomo Inhibitor Resistance in the KPC-2 β -Lactamase, a Preeminent Property of This Class A β -Lactamase *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2010; 54: 890-897.
6. Li XZ, Zhang L, Srikumar R, Poole K Beta-lactamase inhibitors are substrates for the multidrug efflux pumps of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 1998; 42(2): 399-403
7. Poole K Resistance to beta-lactam antibiotics in Gram-negative pathogens, are a major determinant of this resistance, although alterations in the beta-lactam targets, the penicillin-binding proteins (PBPs), are also important, especially in Gram-positive pathogens. *Cell Mol Life Sci.*, 2004; 61(17): 2200-23.
8. Patrice Nordmann, Laurent Poirel, Mark A. Toleman, and Timothy R. Walsh Does broad-spectrum β -lactam resistance due to NDM-1 herald the end of the antibiotic era for treatment of infections caused by Gram-negative bacteria? *J. Antimicrob. Chemother.*, 2011; 66: 689-692.
9. Sarah M. Drawz and Robert A. Bonomo Three Decades of β -Lactamase Inhibitors. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2010; 23: 160-201.
10. Srikumar R, Li XZ, Poole K Inner membrane efflux components are responsible for beta-lactam specificity of multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 1997; 179(24): 7875-81.

неефективно. След спирането на антибиотика, резистентността не се отстранява напълно и скоро след включването му в лечебните схеми тя бързо достига предишни нива.

- Контролът върху предписваните антибиотици и ограничаването на използването им премахва най-важния механизъм за развитие на резистентност – селективния антибиотичен натиск върху бактериалните популации и е най-ефективния подход за борба с бактериалната резистентност.

Адрес за кореспонденция:

Доц. д-р Камен Янков
Клиника по пулмология
МБАЛ „Св Марина”-Варна
бул. „Хр Смирненски” 1
9000 Варна
+359889854872