



Твърде много резистентни микроорганизми, твърде малко нови лекарства

Д-р Павлина Гатева

*Катедра по фармакология и токсикология, Медицински университет, София;
Катедра по фармакология и клинична фармакология, Софийски университет*

Съвременни антибактериални средства и антибиотична резистентност

Използваните в практиката антибактериални средства имат много и разнообразни механизми на действие. Някои от тях инхибират синтеза на клетъчната стена (пеницилини, цефалоспорици, гликопептиди), други потискат белтъчния синтез (макролиди, тетрациклини, аминогликозиди, оксазолидинони), повлияват цитоплазмения метаболизъм (сулфонамиди, trimethoprim), действат върху цитоплазмената мембрана (polymyxin) или потискат ДНК-репликацията (флуорохинолони). Това разнообразие все още не означава, че сме се справили успешно с инфекциите, особено с т. нар. „bad bugs“¹ – methicillin-резистентни *S. aureus* (MRSA), *Acinetobacter*, продуциращите бета-лактамази с разширен спектър (extended-spectrum beta-lactamases ESBL) *E. coli* и *Klebsiella*, *P. aeruginosa*, vancomycin-резистентни ентерококи (vancomycin-resistant *S. epidermidis* – VRE), *Aspergillus* spp, Грам-отрицателни пръчици.

Също толкова разнообразни са и механизмите, чрез които бактериалните клетки развиват резистентност. В някои случаи се променят таргетните екстра- или интрацелуларни структури (бета-лактами, макролиди, хинолони, гликопептиди), в други случаи започват да се синтезират разграждащи антибактериалното средство ензими (бета-лактами, аминогликозиди), развиват се метаболитни пътища, заобикалящи потискания от антибактериалния агент (trimethoprim/sulfamethoxazole), активизира се ефлуксът (макролиди, хинолони) или намалява пропускливостта на клетъчната мембрана за антибактериалния агент (trimethoprim/sulfamethoxazole). В САЩ много повече пациенти умират от MRSA, отколкото от СПИН и туберкулоза, взети заедно.² Повишава се честотата на високорезистентните Грам-отрицателни патогени: *Acinetobacter* spp, *P. aeruginosa*, карбапенем-резистентни *Klebsiella* и *E. coli*.

Бактериалните фактори в преноса на резистентност³ са: селекция на резистентни мутанти при антибиотична експозиция, клонално разрастване на резистентни щамове между хоспитализирани пациенти във и между институциите, трансфер на генетични детерминанти на резистентност между бактериалните щамове и селекция на мутанти с кръстосана резистентност спрямо другите антибактериални класове.

Така антибактериалната резистентност се явява непрекъснато предизвикателство¹ и стимул пред фармакологията за търсене на нови, по-ефикасни и относително безопасни антибактериални лекарства. Антиинфекциозната терапия се движи по една своеобразна спирала, при която, след въвеждане в практиката на нови антибактериални агенти, микроорганизмите развиват резистентност и това се явява като стимул за фармацевтичната индустрия за въвеждане на нови антибиотици. В последните 10–15 години обаче броят на новите молекули, доказали качествата си на ефективни и относително безопасни лекарства, все повече намалява.⁵ Заслужава да се споменат linezolid, daptomycin, новите гликопептиди (dalbavancin, telavancin), doripenem, ceftobiprole, iclaprim др. Принудени сме да се обръщаме към стари, забравени лекарства, като colistin, който е силно токсичен. В някои случаи липсват достатъчно данни, които да насочват избора на дозировка или продължителност на лечението.

Фармакокинетично-фармакодинамично индивидуализиране на противомикробната терапия и възникването на резистентност

За успешната противомикробна терапия е от особено значение постигането на адекватна концентрация на антибактериалния агент в мястото на инфек-



ция или концентрацията му в кръвта, ако се касае за системна инфекция.⁶

Фармакодинамиката на антибактериалните средства описва концентрация- и време-зависимите отношения на антибиотиците спрямо патогените в организма. Описани са три фармакодинамични категории на антибактериалните средства: 1) време-зависим ефект с минимален или липсващ постантибиотичен ефект – бета-лактами, vancomycin; 2) концентрация-зависим ефект с постантибиотичен ефект – аминогликозиди, daptomycin, флуорохинолони, metronidazole, azithromycin, кетолуиди; 3) време-зависим ефект, който се усилва от концентрацията с постантибиотичен ефект – clarithromycin, clindamycin, erythromycin, linezolid, стрептограмини, тетрациклини, tigecycline.

Време-зависимите антибиотици упражняват оптимален бактерициден ефект, когато лекарствената концентрация се поддържа над минималната инхибиторна концентрация (МИК).⁷ Типично се поддържат концентрации 2 до 4 пъти МИК през дозовия интервал. Повишаването на концентрацията на тези антибиотици не е съпроводено с по-силен бактерициден ефект. Освен това те имат минимален или никакъв постантибиотичен ефект.

Концентрация-зависимите антибиотици показват засилване на бактерицидния ефект с повишаване на антибиотичната концентрация.⁸ Освен това, те имат и концентрация-зависим постантибиотичен ефект, при който бактерицидният ефект продължава и за времето, в което антибиотичните нива спадат под МИК. Ефикасността на тези антибиотици се определя от максималната концентрация и от площта под кривата концентрация-време (area under the curve – AUC). За оптимален бактерициден ефект на антибиотиците от тази група са необходими концентрации от порядъка на 10 пъти МИК.

Третата фармакодинамична категория антибактериални средства се състои главно от бактериостатични антибиотици с продължителен постантибиотичен ефект.⁹ Някои от тях преди това са били отнасяни към време-зависимите. Поради наличието на постантибиотичен ефект обаче те показват и концентрация-зависими свойства. Ефикасността на тази група се определя чрез съотношението AUC/МИК.

Постантибиотичният ефект представлява феномен на продължително потискане на бактериалния растеж след краткотрайна експозиция на бактериите на действието на противомикробния агент.¹⁰ Този ефект най-вероятно се дължи на няколко различни механизми, включващи нелетално увреждане, а също и на трайно наличие на лекарството в бактериалното лекарство-свързващо място във време, през което антибиотикът е напуснал организма. Факторите, от които зависи постантибиотичният ефект, са: микроорганизма, размера на инокулата, вида и концентрацията на антибактериалния агент и продължителността на експозицията. Определените *in vitro* постантибиотични ефекти не винаги съответстват на тези *in vivo*. Напр. пеницилините показват

силен постантибиотичен ефект спрямо стрептококи *in vitro*, но *in vivo* такъв ефект изобщо липсва.

Някои антибиотици притежават и силно изразен постантибиотичен левкоцитен ефект – след краткотрайна експозиция на антибактериален агент се установява повишена чувствителността на микроорганизмите спрямо антибактериалното действие на нормалните човешки левкоцити.¹¹

Фармакокинетично-фармакодинамичното индивидуализиране на противомикробната терапия от една страна повишава нейната ефикасност, а от друга страна има отношение към антибиотичната резистентност. Наличието на сублетални концентрации от антибактериалния агент упражнява селективен натиск върху популацията от патогени, без да води до ерадиране. При такива условия мутантни щамове, развили резистентност, започват да доминират популацията.

Антибактериални средства срещу Грам-положителни микроорганизми

Грам-положителните микроорганизми са тези, които се оцветяват по Грам в тъмносиньо или виолетово, тъй като задържат кристалвиолетовото багрило благодарение на дебелия си (до 80 нанометра) слой пептидогликан. Липотейхоевата киселина в пептидогликановия слой действа като хелатор и освен това е регулатор на автолитичните процеси. Повечето патогени при човека са Грам-позитивни микроорганизми.

Пеницилини

Penicillin е въведен в практиката през 1944 г., а само няколко години след това се установяват penicillin-резистентни щамове *S. aureus*. Една от най-честите причини за тази резистентност е продукцията на бета-лактамази – ензими, които разцепват бета-лактамния пръстен. Бета-лактамази продуцират както Грам-положителни, така и Грам-отрицателни микроорганизми. Особеност на стафилококовите бета-лактамази е, че могат да се екскретират екстрацелуларно и следователно да инактивират антибиотика още преди да е попаднал в бактериалната клетка.

Антистафилококовите пеницилини (от групата на methicillin) са въведени в практиката през 1959 г., но две години по-късно вече се регистрира появата на methicillin-резистентни стафилококи. Methicillin-резистентните *S. aureus* (MRSA) притежават ген (mecA), кодиращ уникален пеницилин-свързващ протеин (PBP2' или PBP2a) с нисък афинитет към всички бета-лактамни антибиотици. Регулаторни гени (mecR1 и mecI) контролират експресията на mecA и понякога търпят мутации. Гените, които регулират експресията на бета-лактамазите, също повлияват експресията на mecA. Установено е, че почти всички methicillin-резистентни *S. aureus* продуцират бета-лактамази. Освен това, спомагателни гени (fem A-F) участват в кодирането на пептидогликановата структура и



повлияват степента на резистентност, дължаща се на RVP2a. В много от щамове само малка част от бактериалната популация експресира резистентност (хетерорезистентност).¹²

Флуорохинолони

През 1987 г. големи надежди се възлагат на регистрирания тогава ciprofloxacin, но 10 години по-късно, през 1997 г., до 90% от щамове *S. aureus* се оказват резистентни.¹³ Флуорохинолоните (към които принадлежи и ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin, както и по-новите представители levofloxacin, moxifloxacin) блокират бактериалната ДНК-репликация чрез инхибиране на ензимите ДНК-гираза и топоизомераза IV. Механизмите, чрез които бактериите стават резистентни на тяхното действие, са: свръхекспресия на ефлуксна помпа, промени в пермеабилитета на бактериалната мембрана и индукция на фибронектин-свързващи протеини.

Гликопептиди

Vancomycin е въведен в практиката още през 1956 г. През 1997 г. се регистрират щамове *S. aureus* с интермедиерна чувствителност (vancomycin-intermediate *S. aureus* – VISA) спрямо този гликопептиден антибиотик. През 2002 г. вече има регистрирани и резистентни щамове (vancomycin-resistant *S. aureus* – VRSA).¹⁴ Счита се, че за появата на VISA са отговорни множество мутации, водещи до активиране на пътищата за синтез на клетъчната стена, повишен ъптейк на нутриенти и насочване на метаболизма в посока на синтез на клетъчната стена. VISA са резултат от продължителен еволюционен процес. Те консумират много по-големи количества нутриенти и енергия, но порастват много по-бавно. Необходимо е провеждането на продължителна терапия с vancomycin, за да бъдат селектирани от предшестваща популация хетерогенни *S. aureus* с интермедиерна чувствителност спрямо vancomycin (heterogenous vancomycin-intermediate *S. aureus* – hVISA).

Vancomycin се свързва с D-alanyl-D-alanine – дипептид, необходим за нормалния интегритет на клетъчната стена, и по този начин блокира изграждането на клетъчната стена (пептидогликана). Резистентните клетки продуцират D-alanyl-D-lactate или D-alanyl-D-serine, които са със 1000 пъти по-слаб афинитет към vancomycin. Сложна мрежа от предаващи се гени продуцира и регулира ензимите, които синтезират променените таргети и отстраняват остатъците от D-alanyl-D-alanine.

Vancomycin е първият представител от групата на гликопептидите. Открит е в почвата на Борнео. Продуцира се от *Streptomyces orientalis*. Представлява голяма молекула с тесен спектър. Активен е спрямо повечето Грам-положителни бактерии, включително и много от тези, които са резистентни на други антибиотици. Използва се при сериозни Грам-положителни инфекции при пациенти, алергични към penicillin (напр. ендокардит, причинен от *S. aureus*), при

MRSA (methicillin-резистентни *S. aureus*) и при MRSE (methicillin-резистентни *S. epidermidis*). Перорално се прилага при колит, причинен от *C. difficile*. Може да се прилага и при инфекции, причинени от *S. pneumoniae*, резистентни на пеницилини и цефалоспорици (особено менингит).¹⁵

Пероралната резорбция на vancomycin е пренебрежимо слаба (нивата на vancomycin в изпражненията могат да достигнат до 10 000 mcg/ml и това се използва при лечение на инфекцията с *C. difficile*). Vancomycin се екскретира през бъбреците – плазменният му полуживот (T_{1/2}) е 6 часа (при анефрични пациенти T_{1/2} е до 7 дни). При нарушена бъбречна функция дозата трябва да се намали. Пероралната доза е от 125 до 500 mg на 6 часа. Концентрацията в цереброспиналната течност е 15% от тази в плазмата.

Нежеланите ефекти на vancomycin са хистаминолиберацията, нефро- и ототоксичността. Инфузирането на този антибиотик може да причини „синдром на червения човек“, – обрив, дисфореза, хипотония, които се дължат на хистаминолиберацията. Тази реакция не е имунологично медирана и не е противопоказание за прилагане на vancomycin. Препоръчва се бавното инфузиране. По отношение на бъбречната токсичност все още няма консенсус относно точните механизми. Рядко vancomycin може да причини интерстициален нефрит. Ототоксичността също е рядък нежелан ефект. Мониторинг на серумните нива на антибиотика широко се използва. Необходимо е и стриктно проследяване на ефикасността и токсичността.

Нови представители от групата на гликопептидите, активни срещу VRSA, са oritavancin, dalbavancin и telavancin.¹⁶ Характерен за dalbavancin е много дългият полуживот (7 дни), което позволява еднократно седмично прилагане.

Оксазолидинони

Linezolid е първият представител от групата на оксазолидиноните.¹⁷ Той е напълно синтетичен и се приема перорално (100% перорална бионаличност). Рискът да се развие резистентност е нисък, поради ниската честота на спонтанните мутации 10¹¹ – 10⁹ (при повечето случаи с инфекция е малко вероятно да съдържат и 1 мутант). Освен това, бактериалната клетка съдържа по няколко копия на таргетния ген 23S rRNA (за *S. aureus* те са 6). За да се развие резистентност, е необходимо да настъпи едновременна мутация във всички копия.

Оксазолидиноните инхибират бактериалния белтъчен синтез чрез инхибиране формирането на 70S инициращия комплекс. Това става чрез свързване с 50S-рибозомната субединица в непосредствена близост до 30S-субединицата. Този механизъм е уникален и не съществува кръстосана резистентност с другите антибиотици, инхибиращи белтъчния комплекс.

Linezolid е разрешен за употреба през 2000 г. В предмаркетинговия му период са съобщени 15 резистентни изолата, като средната продължителност



на приемане на медикамента е бил 32 дни. При продължително прилагане (20 до 40 дни) на трансплантирани и хемодиализирани пациенти, честотата на възникване на резистентност е около 13%.

Стрептограмини

Стрептограмините са друга възможност за лечение на тежки Грам-положителни инфекции. Препаратът Synergid¹⁸ представлява комбинация от две полусинтетични производни на пристиномицина – quinapristin (производно на пристиномицин I) и dalforpristin (производно на пристиномицин IIA) в съотношение 30:70. Всеки от тях се свързва с различно място по рибозомата и ефектът им е синергичен. Dalforpristin инхибира ранната фаза от белтъчния синтез, а quinapristin инхибира късната фаза. И двете съставки на препарата са макролактони, принадлежачи към антибиотичната фамилия макролидолинкозамиди-стрептограмини (MLS).

Synergid е ефикасен срещу почти всички анаеробни и аеробни Грам-положителни коки, включително и много от тези, които са резистентни на макролиди, бета-лактами и гликопептиди. Прилага се също и при резистентни на penicillin пневмококи, MRSA и E. faecium, резистентни на vancomycin. Не е активен обаче спрямо E. faecalis. Разрешен е за употреба през 1999 г. за лечение на животозастрашаващи инфекции с E. faecium, резистентни на vancomycin, и за лечение на усложнени мекотъканни инфекции, причинени от S. aureus, чувствителни на methicillin (MSSA) или стрептококи от група A.¹⁹

Времето за полурелиминиране на quinapristin и на dalforpristin е съответно 0.85 и 0.7 часа. Synergid инхибира цитохром P450 3A4 изоензима (10 mcg/ml Synergid *in vitro* инхибира 70% от cyclosporine A). От 75 до 77% от приложената доза на Synergid се екскретират с фекалиите (както самото лекарство, така и неговите метаболити). С урината се екскретират около 15% от дозата на quinapristin и около 19% от дозата на dalforpristin.

Нежеланите ефекти при прилагане на Synergid са главно периферни реакции в мястото на инфузиране (флебит, болка) – при 75% от пациентите. Препоръчва се да се прилага бавно през централен венозен път. Артралгия/миалгия се срещат при 16–50% от пациентите, с начало около 2 дни след старта на терапията и продължителност около 9 дни.

Важно е да припомним, че E. faecalis е най-честият ентерококов изолат, както и възможността за клинично значими лекарствени взаимодействия с агенти, метаболизиращи се от цитохром P450 3A4 – cyclosporine A, midazolam, nifedipine. Synergid е стабилен за кратко време след реконституране.

Daptomycin

Daptomycin е нов липопептиден антибиотик,²⁰ (разрешен през 2003 г.), действащ върху клетъчната мембрана на Грам-положителните бактерии. С помо-

щта на калциеви йони той се вмъква в бактериалната мембрана, предизвиква олигомеризация и се оформят канали, през които изтичат калиевите йони. Бактерицидният ефект на daptomycin по отношение на MRSA е два пъти по-силен в сравнение с този на vancomycin. Установено е, че daptomycin действа бактерицидно, без да лизира S. aureus.

Антибиотикът е токсичен за скелетната мускулатура – предизвиква обратима миопатия с регенерация, без лиза или некроза (препоръчва се да се мониторира повишените нива на креатин-фосфокиназата). Този нежелан ефект е свързан с честотата на дозиране и е сходен с ефектите, които се наблюдават при умерена физическа активност.

При прилагане на пациенти с пневмония, придобити в обществото, е установено, че сърфактантът намалява ефективността на daptomycin.

Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX)

По отношение на комбинацията TMP-SMX повечето щамове MRSA (около 95%) са чувствителни. Бета-хемолитичните стрептококи от група A са резистентни. За повечето щамове тази комбинация е бактерицидна. Няма много публикувани данни за прилагане при Грам-положителни инфекции. Повече опит има със слаби до умерени кожни и мекотъканни инфекции.²¹

Тетрациклини

Групата на тетрациклините е разработена в резултат от скрининг на почвата за антибиотични организми. Първият от тази група – chlortetracycline, е въведен в практиката още през 1948 г. Поради широкият им антибактериален спектър и липсата на сериозни нежелани ефекти, тетрациклините са били използвани много интензивно и при хора, и при животни, което е довело до развитие на резистентност. Те инхибират белтъчния синтез в бактериите, предотвратявайки прикрепването на аминоксил-тРНК до рибозомното А място.²²

Малко са публикуваните данни относно прилагането на тетрациклини при Грам-положителни инфекции. Установено е, че minocycline е по-ефикасен от doxycycline, а той на свой ред е по-ефикасен от tetracycline. Над 90% от MRSA са чувствителни на тетрациклини. Активността по отношение на бета-хемолитични стрептококи от група A е непредвидима поради наличие на резистентност. Тетрациклините са противопоказани при деца до 8 години. Резистентността спрямо тетрациклините се дължи на ефлуксна помпа, кодирана от tetA гените. Гените tetQ и tetM, които могат да си предават един на друг щамове Bacteroides и Escherichia, кодират белтък, който предпазва рибозомите от инхибиращия ефект на тетрациклините. Съобщава се за кръстосана резистентност между отделните представители, но ако резистентността спрямо tetracycline се дължи на ефлукс, doxycycline и minocycline (които не са ефлуксни субстрати) могат да показват *in vitro* активност.



Макролиди-линкозамиди-стрептограмини (MLS)

Макролидите, линкозамидите и стрептограмините имат различна структура, но много сходни инхибиторни ефекти върху белтъчния синтез на бактериите. Тези антибиотици широко се използват за лечение на Грам-положителни инфекции.

Макролидите (erythromycin, clarythromycin, azithromycin) се свързват с 50S-субединицата и пречат на нарастването на пептидната верига, предизвиквайки преждевременно освобождаване на пептидил-tRNA. Освен това пречат на събирането на рибозомите в ранния стадий от белтъчния синтез.

Два основни типа гени обуславят резистентността спрямо макролидите²³ – erm и mef. Генът erm кодира метилаза, която метилира адениновия остатък в 23S rRNA, който е компонент от 50S rRNA. Генът mef кодира ефлуксна помпа за макролиди.

Clindamycin представлява циклична аминокиселина (хигринова киселина), свързана със захарен остатък (линкозамид). Получен е чрез заместване на OH групата с хлор на 7 позиция в молекулата на lincomycin. Самият lincomycin пък се продуцира от *Streptomyces lincolensis* и е открит през 1962 г. Clindamycin се свързва с 50S рибозомната субединица и пречи на иницирането на формиране на пептидни връзки. Действа бактериостатично или -цидно в зависимост от конкретния микроорганизъм. Резистентност настъпва чрез метилиране на аденина в rRNA (MLS).²⁴ В по-ниски концентрации инхибира продукцията на някои ензими или токсини. Clindamycin е активен спрямо Грам-позитивни (кlostриди) и Грам-негативни анаероби (бактероидес), Грам-позитивни аероби (*S. aureus* и *S. pyogenes*), както и по отношение на някои протозои (токсоплазма, бабезии, плазмодии).

Около 50% от придобитите в обществото MRSA са резистентни на erythromycin. Около 10% са резистентни на clindamycin. Резистентността на стафилокоците към макролиди може да се дължи на активен ефлуксен механизъм (кодиран от *mecA* гена) или може да се дължи на модификация на рибозомния таргет (макролид-линкозамид-стрептограмин в [MLS_B] резистентност, кодирана от *ermA* или *ermC* гените). MLS_B резистентността е конститутивна или може да се индуцира при внасяне на макролиди в средата. Преди да се приложи терапия с clindamycin при стафилококова инфекция, се препоръчва да се направи т. нар. Д-тест, с който се установява евентуално наличие на индуцибилен MLS_B механизъм на резистентност.

Глициклини

Tigecycline²⁵ е първият от нов клас антибиотици – глициклини. Разработен е в отговор на нарастващата резистентност на *S. aureus* и *A. baumannii*. Структурно сходен е с тетрациклините. Tigecycline е бактериостатичен и инхибира белтъчния синтез чрез свързване с 30S-рибозомната субединица, блокирайки навлизането на аминоксил-tRNA в акцепторното (A) място. Антиби-

отикът има широк спектър на действие и при него са избегнати механизмите на резистентност, характерни за тетрациклините.

Антибактериални средства срещу Грам-отрицателни микроорганизми

Грам-отрицателните микроорганизми не могат да задържат кристалвиолетовото багрило при оцветяване по Грам, тъй като имат много по-тънък слой пептидоглицан и не притежават липотейхоеви киселини. Оцветяват се в розово от добавената контрабоя (обичайно сафранин). Характерна за тях е липополизахаридната външна мембрана, която пречи на редица антибиотици (напр. penicillin) да окажат действието си.

Аминогликозиди

Аминогликозидите все още са много широко използвани при лечение на сериозни ентерококови и Грам-негативни инфекции, независимо от дългата си история (първият аминогликозид streptomycin е изолиран още в 1943 г.).²⁶ Традиционно се счита, че антибактериалните им свойства са резултат от инхибиране на бактериалния белтъчен синтез чрез необратимо свързване с 30S рибозомната субединица. С това обаче не може да се обясни мощният им бактерициден ефект. Установено е, че първоначалното им място на действие е външната бактериална мембрана, свързването с която води до изтичане на цитоплазмено съдържимо. Навлизането на аминогликозидите в бактериалната клетка е енергия-зависим процес. Анаеробите могат да осигурят много по-малко енергия и поради това аминогликозидите са слабо активни спрямо тях.

Ефектът им върху белтъчния синтез се дължи на свързване с 16S rRNA и „замразяване“, на 30S-инициращия комплекс (30S-mRNA-tRNA), така че не може да се осъществи последваща инициация. Освен това забавят белтъчния синтез, който вече е започнал, и индуцират грешки в разчитането на mRNA. Свързването с 16S rRNA води и до повишаване афинитета на акцепторното място А за tRNA, без оглед на антикодонната специфичност.

Аминогликозидите са бактерицидни спрямо повечето Грам-отрицателни бактерии, вкл. *Acinetobacter* spp, *Citrobacter* spp, *Enterobacter* spp, *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia* spp., и срещу много Грам-позитивни микроорганизми: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus* spp, *Enterococcus* spp. Gentamycin действа синергично с агентите, повлияващи строежа на клетъчната стена, по отношение на тези Грам-положителни микроорганизми. Streptomycin е единственият груг аминогликозид, който може да се използва за Грам-положителни инфекции.

Механизмите,²⁷ чрез които Грам-отрицателните бактерии развиват резистентност по отношение на аминогликозидите, са: продукция на ензими, които фосфорилират, ацетилират (особено на място 3' и 6') или аденилират аминогликозидите. Този механизъм е от голямо клинично значение, тъй като гените, коду-



раци тези ензими, се разпространяват чрез плазмиди или транспозони. Намалено натрупване или ефлукс на аминокликозидите е друг възможен механизъм на резистентност.

Аминокликозидите не се резорбират перорално. Инжектират се мускулно или венозно. При тежки белодробни инфекции могат да се прилагат и инхалаторно. Разпределят се интраваскуларно/екстрацелуларно в съотношение 0.3–0.5. Проникват в мастна тъкан, бял дроб, бъбреци и цереброспинална течност. Обемът на разпределение при критично болни и при чернодробно болни с асцит е по-голям. Аминокликозидите не се метаболизират. Екскретират се непроменени през бъбреците. Могат да се очистят и с хемодиализа, перитонеална диализа или с хемофилтрация. Плазменният им полуживот зависи от бъбречната функция, но обичайно е 2 до 4 часа. Свързването с плазмените протеини е незначително.

Бактерицидният ефект на аминокликозидите е концентрация-зависим.²⁸ Това означава, че най-добре се представя чрез съотношението Стах:МИК. Клиничният успех се очаква при концентрации 8–10 пъти МИК, като оптималното съотношение варира за различните лекарства и микроорганизми.

Комбинираното прилагане на аминокликозидите с vancomycin повишава риска от поява на токсични ефекти, особено нефротоксичност.

Благодарение на концентрация-зависимия бактерициден ефект, аминокликозидите могат да се прилагат веднъж на 24 часа и това е по-безопасно, отколкото ако се прилагат през 12 или през 8 часа. 24-часовият режим на дозиране обаче не е показан при ендокардит, а използването му при пациенти в напреднала възраст, сърдечна недостатъчност или чернодробно заболяване изисква повишено внимание.

Пациентите със сърдечна недостатъчност имат повишен риск от развитие на резистентност спрямо аминокликозидите. Освен това има и данни, подсказващи екзацербация на сърдечната недостатъчност от аминокликозидната терапия.

Цефалоспорици

Цефалоспорици са бактерицидни бета-лактамни антибиотици, които могат да се класифицират в пет поколения.²⁹ Отнасящите се към първо поколение имат добра активност по отношение на Грам-положителни микроорганизми (но не и MRSA, ентерококи или причинители на инфекция на ЦНС) и умерена активност по отношение на Грам-отрицателните микроорганизми. Цефалоспорици, отнасящи се към втора генерация, също имат добра активност спрямо Грам-положителните микроорганизми и засилена активност по отношение на Грам-отрицателните микроорганизми. Те са активни и по отношение на някои анаероби. Не са добър избор за лечение на смесени инфекции. Отнасящите се към трета и четвърта генерация цефалоспорици имат отлична активност по отношение на Грам-отрицателните микроорга-

низми и слаба активност по отношение на Грам-положителните (съществуват и изключения). Към пета генерация се отнася препаратът ceftobiprol, който има отлична активност спрямо Грам-отрицателните и Грам-положителните микроорганизми (включително VRE, коагулаза-отрицателни стафилококи, penicillin-резистентни S. pneumoniae, MRSA и Enterobacteriaceae).

Цефалоспорици се елиминират непроменени с урината и имат кратък полуживот (ceftriaxone е изключение). Клинично-значимите им лекарствени взаимодействия са малко на брой. Най-честите нежелани ефекти са алергичните реакции (възможна е кръстосана реактивност с пеницилините), колонизация с C. difficile, MRSA или с микроорганизми, продуциращи бета-лактамази с разширен спектър (extended spectrum beta-lactamases – ESBL), особено при прилагане на цефалоспорици от трета генерация (ceftriaxone, ceftazidime). Могат да се наблюдават още гърчове или промени в менталния статус.

Инхибитори на бета-лактамази

Продукцията на бета-лактамази³⁰ е основен и много важен механизъм, чрез който Грам-отрицателните микроорганизми са резистентни спрямо бета-лактамните антибиотици. Грам-отрицателните микроорганизми, които показват резистентност към по-отдавна въведените в практиката бета-лактамни антибиотици, обикновено притежават или SHV ензими (притежаващи вариабилни отговори към сулфхидрилни инхибитори), каквито продуцират клебсиелите, или TEM (наречен по името на гръцката пациентка Temoneira, в чиято кръв са изолирани за пръв път резистентни E. coli), каквито се установяват при Enterobacteriaceae. До момента са познати най-малко 130 TEM-типа и най-малко 50 SHV-типа бета-лактамази с широк спектър. Напоследък се изолират и цефотаксимази, които хидролизират предимно cefotaxime, макар че може да се засегне и активността на ceftazidime.

Първият бактериален ензим, за който е съобщено, че разрушава пеницилините, е именно AmpC бета-лактамазата на E. coli, макар че по това време, през 1940 г., не се е наричал така. По-късно, през 1965 г., шведски изследователи започват системното проучване на бета-лактамазите при E. coli. Този тип бета-лактамази не се инхибира от бета-лактамните инхибитори (clavulanate, sulbactam, tazobactam) и е причина за резистентност спрямо първа, втора и трета генерация цефалоспорици, монобактами, някои пеницилини и бета-лактамазни инхибитори (в известна степен). Бактериите, продуциращи тези ензими, обичайно са чувствителни спрямо карбапенеми и до някъде – спрямо четвърта генерация цефалоспорици.

Комбинирани препарати от бета-лактам и бета-лактамен инхибитор са въведени в практиката за преодоляване ефекта на бета-лактамазите. Такива са: amoxicillin-clavulanate, ticarcillin-clavulanate, ampicillin-sulbactam, piperacillin-tazobactam и cefoperazone-sulbactam. Използваните в практиката бета-лактамазни инхибитори обаче са активни единствено по



отношение на бета-лактамази от клас А и ефикасността на комбинацията инхибитор/антибактериален агент може да се компрометира чрез продукция на клас В и клас D ензими, хиперпродукция на АmpC и дори чрез инхибитор-резистентни клас А ензими.³¹ Ето защо спешно се нуждаем от нови и с по-широк спектър на действие бета-лактамазни инхибитори.

Карбапенеми

Карбапенемите също се отнасят към бета-лактамите антибиотици с широк спектър на антибактериална активност. Тяхната структура е такава, че ги прави устойчиви на повечето бета-лактамази.

Естествено резистентни³² към карбапенемите са: *S. maltophilia* и *Aeromonas* spp. Мутация или липса на D2-порина (наречен OprD) по външната мембрана, е най-честият механизъм, чрез който *P. aeruginosa* развива резистентност към карбапенемите. Това е причината карбапенемите да не могат да стигнат до пеницилин-свързващите протеини и да окажат своето действие. Придобитата резистентност възниква рядко и е плазмидно кодирана; може да включва карбапенемази или ефлуксни помпи. Често намаленият пермеабилитет действа едновременно с ефлуксна помпа. Увреждане структурата на таргетните пеницилин-свързващи протеини е друг описан механизъм на резистентност по отношение на карбапенемите.

Най-често придобита резистентност по отношение на карбапенемите се среща при *Pseudomonas* spp и *Acinetobacter* spp. Карбапенемите по правило са средства на избор за лечение на инфекции с *Acinetobacter* spp, тъй като резистентността все още е ниска. Честотата на кръстосаната резистентност също е ниска.

Имipенет – първият представител на карбапенемите, въведен в практиката, се разгражда от бъбречната дихидропептиза I и притежава гърчогенен потенциал. За разлика от него тегорепет е устойчив на действието на дихидропептиза I, има по-слаб гърчогенен потенциал, а освен това има и повишена активност спрямо Грам-отрицателните микроорганизми. Dogipенет също е устойчив на дихидропептиза I, гърчогеният му потенциал е слаб, противомикробният му спектър е по-балансиран, стабилността на разтвора му е по-голяма и *in vitro* показва по-голяма активност спрямо *P. aeruginosa*.

Ертапенет принадлежи към група 1 на карбапенемите.³³ Към тази група се отнасят широкоспектрните карбапенеми с ограничена активност спрямо неферментиращи Грам-отрицателни пръчици. Карбапенемите от група 1 са много подходящи за лечение на придобити в обществото инфекции и се различават от карбапенемите от група 2 (имipенет и тегорепет), които притежават мощна активност по отношение на Грам-отрицателни неферментативни бацили и са особено подходящи за нозокомиални инфекции. Ертапенет има отлична антибактериална активност *in vitro* срещу много анаеробни и аеробни

патогени и притежава удобството, свързано с еднократно дневно приложение. Използва се за интраабдоминални или мекотъканни инфекции, пневмонии, инфекции с микроорганизми, продуциращи бета-лактамази с разширен спектър, може успешно да замести комбинацията piperacillin-tazobactam В много от случаите, показва сходен риск от поява на гърчове с този на другите карбапенеми, дозата следва да се съобрази с бъбречната функция, а употребата му трябва да е ограничена и непродължителна (за предотвратяване на резистентност).

Флуорохинолони

Флуорохинолоните са клас антимикробни агенти, които широко са използвани при хоспитализирани и нехоспитализирани пациенти и употребата им все повече расте. Макар някои представители (temafloxacin, grefloxacin, trovafloxacin) да са снети от употреба или употребата им да е ограничена поради нежелани ефекти, продължават да се разработват нови представители (gatifloxacin, тоxifloxacin). Флуорохинолони широко се използват, особено при респираторни инфекции, като допълнително тяхно предимство е едно- или двукратно дневно прилагане. Бъбречният клирънс на ciprofloxacin и на levofloxacin е съответно 50% и 65% от тоталния. Бъбречният клирънс на тоxifloxacin е едва 22% от тоталния клирънс.

Флуорохинолоните блокират ДНК-репликацията чрез инхибиране на ДНК-гиразата и топоизомеразата IV. GyгA- и GyгB-субединиците на ДНК-гиразата са съответно хомоложни на ParC- и ParE-субединиците на топоизомеразата IV.

Описани са следните механизми на резистентност спрямо флуорохинолоните: свръхекспресия на ефлуксна помпа, промени в пермеабилитета на бактериалната мембрана и индукция на фибронектин-свързващи протеини.

Повишаващата се резистентност на Грам-отрицателните пръчици спрямо флуорохинолоните е причина за намаляващата им емпирична употреба при нозокомиални инфекции.³⁴ Ако микроорганизмът е чувствителен *in vitro*, флуорохинолонът може да се приложи, но в достатъчна доза. Пероралната терапия може да замести венозното лечение при пациенти с тежка инфекция, когато състоянието на пациента започне да се подобрява.

Рисковете при употреба на флуорохинолони са свързани с удължаване на QTc интервала (levofloxacin, тоxifloxacin), *S. difficile*-асоциирано заболяване (флуорохинолоните се наричат „новият clindamycin“), глюкозна дисрегулация (gatifloxacin – снет от употреба), руптура на сухожилие (ново предупреждение на FDA). Употребата на флуорохинолони може да бъде свързана и с разрастване или колонизация с MRSA и микроорганизми, продуциращи бета-лактамази с широк спектър.

Colistin

Colistin (натриев колестиметам) или Polymyxin E представлява смес от цикличните полипептиди ко-



листин А и В. Прикрепва се към бактериалната клетъчна мембрана чрез електростатично взаимодействие с липополизахаридите и измества магнезиевите и калциевите йони от липополизахаридите. Повишава клетъчния пермеабилитет и причинява изтичане на клетъчно съдържание.³⁵

Colistin има концентрация-зависима фармакокинетика (оптималният режим на дозиране най-вероятно е еднократно дневно). Дозирането му се базира на бъбречната функция. Няма общоприета концентрационна граница, дефинираща случаите на резистентност. Ако се прилага инхалаторно, лекарството трябва да се прилага непосредствено след приготвянето му.

Colistin е активен *in vitro* срещу Грам-отрицателни микроорганизми. Щамове Proteus, Serattia, Providencia, Burkholderia spp. обичайно са резистентни.

Полимиксините Polymyxin B и Colistin (Polymyxin E) доскоро бяха с ограничена използваемост поради токсичния им потенциал (невротоксичност, нефротоксичност, невромускулна блокада). Активни са срещу някои полirezистентни щамове P. aeruginosa, A. baumannii и някои други Грам-отрицателни микроорганизми.

Tigecycline

Tigecycline е глициклин, подобен на minocycline. Свързва се с 30S рибозомата (5 пъти по-силно от minocycline) и блокира трансфера на аминокиселини-РНК в акцепторното място. Активен е *in vitro* срещу полirezистентни Грам-отрицателни микроорганизми.

Въпреки че tigecycline е активен срещу тетрациклин-резистентни щамове, и по отношение на него са описани резистентни щамове, свързващи tigecycline с протеините TetO и TetM, които протектират рибозомите.³⁶ Описан е и засилен ефлукс на tigecycline, като друг механизъм, на който може да се дължи резистентността на микроорганизмите. Някои клинично значими бактерии, като Proteus, Providencia, Pseudomonas, Morganella, са по-слабо чувствителни спрямо tigecycline.

Tigecycline се прилага при усложнени интраабдоминални, кожни и мекотъканни инфекции, а също и при остеомиелит, причинени от полirezистентни Грам-отрицателни микроорганизми и при продуциращи бета-лактамази с разширен спектър. Acinetobacter бързо развиват резистентност, ако tigecycline се използва за монотерапия.

Trimethoprim-sulfamethoxazole

Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMX) инхибира две последователни стъпки в синтеза на фолиева киселина при бактериите. Оптимални антибактериални ефекти се постигат при съотношение 1:20 (TMP-SMX). Тази комбинация е средство на избор при лечение на инфекция, причинена от Stenotrophomonas и Burkholderia.³⁷

Clarithromycin

Clarithromycin е нов диаминопиримидинов инхибитор на дихидрохлат-редуктазата (кандигат за получаване

на разрешение за употреба от FDA през 2008 г.) с бактерициден ефект. *In vitro* е активен срещу MRSA, VRSA, VISA, Streptococcus spp и Enterococcus spp., H. influenzae, M. catarrhalis и атипични микроорганизми. Claritrim има отлична перорална резорбция, кратък елиминационен полуживот и креатининов клирънс 3%. Постигат се високи концентрации в белия дроб и в алвеоларните макрофази. Понастоящем усилено се проучва приложимостта на claritrim при нозокомиална пневмония и при вентилаторно-асоцирана пневмония.³⁸

Fosfomycin

Fosfomycin е открит през 1969 г. в Испания. Напоследък му се обръща по-сериозно внимание с оглед прилагането му при полirezистентни инфекции при деца с онкологични заболявания. Инхибира мурамил А-трансферазата – ензим, необходим за простагландиновия синтез. Съществуват перорална (в САЩ) и венозна (във Великобритания) форма на приложение. Резорбцията е около 45%. Fosfomycin е активен *in vitro* спрямо E. coli, Citrobacter spp, Klebsiella spp, VRE, P. aeruginosa. Може да се прилага в еднократна доза за лечение на цистит. Бил е използван и за профилактика на рекурентни уроинфекции, причинени от полirezистентни микроорганизми. Не бива да се прилага при креатининов клирънс под 10 ml/min. Препоръчва се използването на fosfomycin като средство от първи ред за емпирично лечение на неусложнена придобита в обществото уроинфекция.³⁹

Заклучение

Системната антимикробна терапия се използва в практиката от около половин век. Тя е и един от факторите, довели до удвояване продължителността на човешкия живот. Доказателствената медицина датира едва от около 15 години. Отговорите, които се изискват от нея, се отнасят до подходящата продължителност на антимикробната терапия (достатъчни ли са 5–10 дни в най-общия случай?); дозирането; селекцията на подходящата терапия за най-честите инфекции (общоприети ръководни правила – т. нар. guidelines); сигурността на диагностиката (напр. храчки).

Антимикробната резистентност продължава да нараства, причинявайки значителна морбидност и mortalitet. Фармацевтичните компании непрекъснато са предизвиквани да се включват с нов арсенал в битката с антимикробната резистентност. Новите (но също и старите) противомикробни средства трябва да се прилагат разумно, за да могат да се използват по-дълго в практиката.

Литература

1. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009 Jan 1; 48(1):1–12.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.