

REZISTENȚA BACILILOR GRAM-NEGATIVI LA BETALACTAMINE: MECANISME DE APARIȚIE, RELEVANȚA CLINICĂ ȘI CONSECINȚE TERAPEUTICE

Elisabeta Otilia Benea*, V. Benea**

REZUMAT

Betalactaminele se numără printre cele mai prescrise antibiotice din întreaga lume. Din cauza popularității betalactaminelor rezistența bacteriană față de această importantă clasă de antibiotice ridică probleme complexe în fața medicilor. Astfel, rezistența bacteriană la antibiotice trebuie să fie controlată printr-o utilizare mai atentă a noilor agenți, în special a celor de uz oral cu spectru largit.

Cuvinte cheie: betalactamine, rezistență bacteriană

Betalactaminele (BL) rămân antibioticele cu cei mai numeroși reprezentanți și cu cea mai largă utilizare în practica terapeutică. Din cauza "popularității" lor rezistența bacteriană (în special a bacililor gram-negativi) față de aceste antibiotice a devenit o problemă majoră, mai ales după introducerea cefalosporinelor cu spectru larg, a combinațiilor de betalactamine cu inhibitori de betalactamaze, a monobactamilor și a carbapenemelor.

Rezistența bacteriană la antibiotice poate să apară prin mutații la nivelul materialului genetic cromozomial, mutații la nivelul genelor ADN extracromozomiale purtate de microorganism sau câștigarea de noi gene ADN (fig. 1).

ABSTRACT

The gram-negative baciles resistance to betalactamines. Apparition mechanisms clinical relevance and terapeutical consequences

Beta-lactam antibiotics are among the most frequently prescribed antibiotics in the world. Because of the popularity of beta-lactams, resistance to this important class of agents poses an increasingly complex problem for physicians. Thus, microbial drug resistance must be controlled by more careful use of the newer agents especially the oral expanded-spectrum agents.

Key words: beta-lactam antibiotics, microbial drug resistance

Există un rezervor larg de gene de rezistență la antibiotice; acestea pot fi câștigate de o bacterie printr-o varietate de mecanisme incluzând conjugarea, trasducția și transformarea. Odată câștigate, aceste gene pot fi incorporate în genomul bacterian sau pot fi purtate de elementele extracromozomiale (plasmide și transpozoni). Totuși, după ce antibioticul este ridicat din mediu bacteria rezistentă nu mai are avantaj de supraviețuire comparativ cu microorganismele susceptibile. Astfel, genele de rezistență tind să fie pierdute în timp, după ridicarea antibioticului respectiv din mediu.

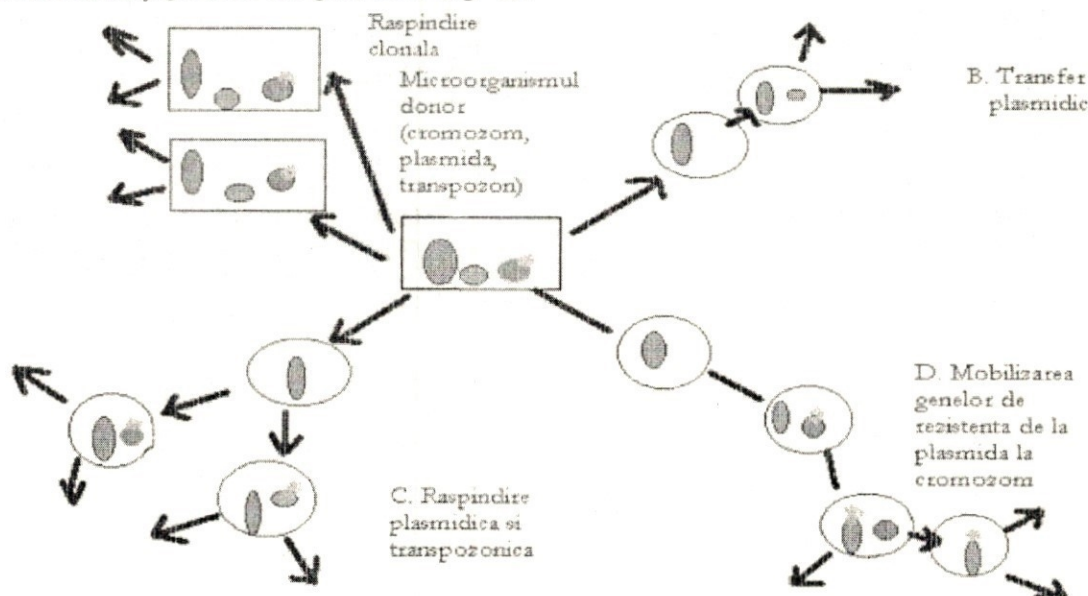


Figura 1. Mecanisme de apariție a rezistenței la antibiotice

*Dr. Otilia Elisabeta Benea, medic primar boli infecțioase, șef secție - Institutul de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș", U.M.F. "Carol Davila", București, doctor în științe medicale

**Dr. Vasile Benea - cercetător științific principal gr. I, Centrul Național Dermato-venerologic, Spitalul clinic de Dermato-venerologie "Prof. Dr. Scarlat Longhin", București, medic primar dermato-venerolog; doctor în științe medicale

1. Principalele mecanisme de rezistență la betalactamine

BL își exercită efectul antimicrobian prin interferarea biosintezei peretelui celular bacterian. Aceasta se realizează prin atașarea covalentă a moleculelor de betalactamine de țintele lor, proteinele care leagă penicilinele (penicillin-binding-proteins = PBP-uri). PBP-urile sunt transpeptidaze, carboxipeptidaze și endonucleaze implicate în sinteza peptidoglicanului și inserate la nivelul membranei citoplasmice bacteriene.

Pentru a-și putea exercita acțiunea, BL trebuie:

- să penetreze prin membrana externă și peptidoglican;
- să traverseze spațiul periplasmic al bacililor gram-negativi fără a fi inactivate de către betalactamaze (blm);
- să se lege cu oarecare afinitate de PBP-urile prezente pe membrana citoplasmică; această legare va determina oprirea sintezei parietale (efect bacteriostatic);
- intervenția autolizinelor va induce liza bacteriană (efect bactericid).

În figura 2 este prezentat modul de acțiune al BL asupra bacteriilor gram-negative.

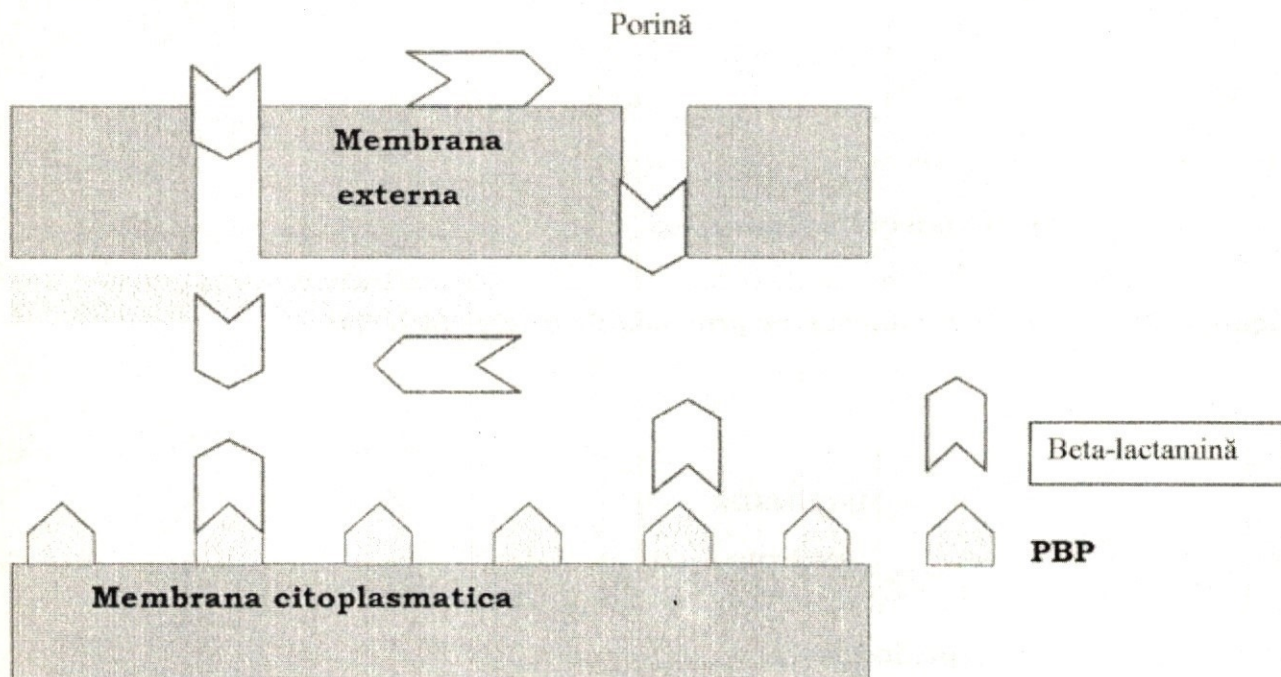


Figura 2. Mecanismul de acțiune al betalactaminelor asupra bacililor gram-negativi

Rezistența la BL apare prin unul sau mai multe din următoarele mecanisme:

1. **Modificarea PBP-urilor:** reduce afinitatea pentru antibiotic:
 - a. modificarea PBP-urilor existente;
 - b. apariția de noi PBP-uri.
2. **Distrușgerea (inactivarea) antibioticului:**
 - A. creșterea producției de betalactamaze (blm):
 - a. prin inducție mai rapidă;
 - b. prin derepresie permanentă.
 - B. mutații în structura unei blm. existente;
 - C. importul de noi blm. cu spectru de activitate diferit.
3. **Reducerea concentrației de antibiotice din bacterie:**
 - A. reducerea pătrunderii: pierderea de porine;
 - B. creșterea eliminării: mecanism de eflux.

1.1. Modificarea PBP-urilor

Rezistența la BL determinată de modificarea PBP-urilor (figura 3) apare prin mutații la nivelul genelor cromozomiale care codifică PBP-urile sau prin câștigarea de gene străine,

suplimentare, care codifică noi PBP-uri.

Acest mecanism de rezistență este important la cocii gram-pozitivi (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*) dar este mult mai rar la bacilii gram-negativi (BGN). Astfel, la BGN "pretențioși" rezistența prin alterarea PBP-urilor este întâlnită la unele specii de *Neisseria* (gonococ și meningococ) și rareori la *H. influenzae*. La BGN "nepretențioși" același mecanism a fost descris la unele tulpini de *Acinetobacter*, *Proteus* și *Ps. aeruginosa* și determină extrem de rar rezistență la imipenem.

1.2. Distrușgerea (inactivarea) betalactaminelor

Cel mai important mecanism de rezistență la BL (prezentat în fig. 4) este producția de betalactamaze (blm.). Aceste enzime pot inactiva antibioticul printr-un mecanism hidrolitic (desfacerea legăturii amidice din inelul betalactamic) sau nehidrolitic (realizarea unei legături foarte puternice între enzimă și substrat, fără hidroliză; "effet eponge").

Atacul hidrolitic al unei BL de către o blm. este influențat de mai mulți parametri care vor contribui la expresia nivelului de rezistență a unei populații bacteriene: afinitatea

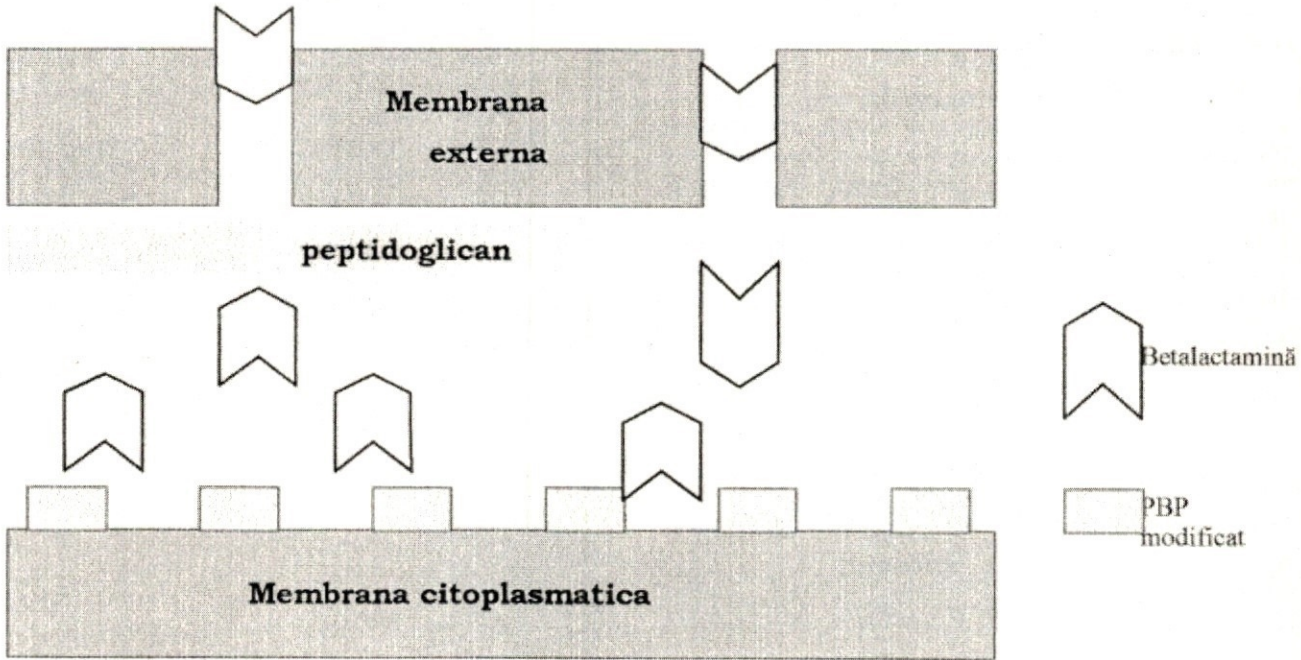


Figura 3. Rezistența la betalactamine prin modificări ale PBP-urilor

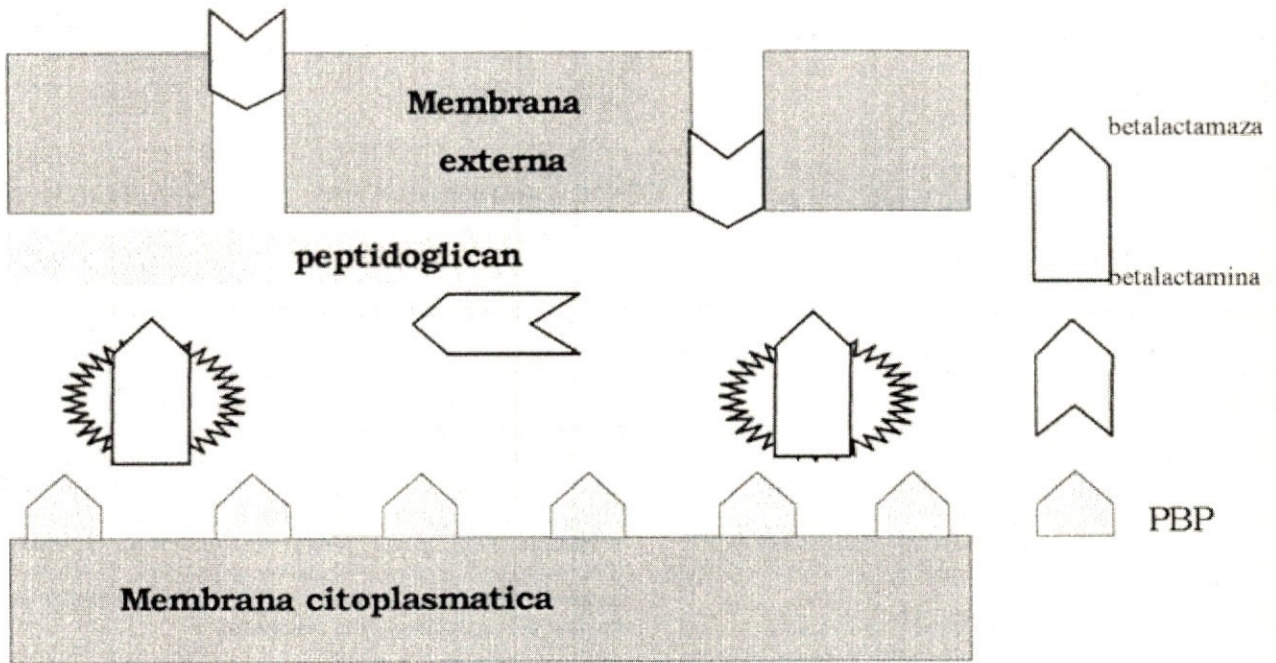


Figura 4. Rezistența la betalactamine prin sinteza de betalactamaze

enzimei pentru substrat (K_m), viteza de hidroliză (V_m), cantitatea de enzimă biosintetizată, localizarea enzimei, difuziunea antibioticului prin membrana externă pentru a ajunge în contact cu enzima (cripticitate), tipul de enzimă.

Eficacitatea unei blm. depinde de viteza de hidroliză (V_m) exprimată procentual prin raportarea la benzilpenicilină sau la cefalosporină și de afinitatea pentru BL (K_m). K_m sau constanta lui Michaelis definește ușurința cu care se realizează legătura între enzimă și substrat, cu formarea complexului enzimă-substrat. Cu cât valoarea K_m este mai

mică, cu atât afinitatea este mai bună. După ce enzima și-a recunoscut substratul hidroliza se poate produce și este caracterizată de constanta V_m , care corespunde vitezei maxime de hidroliză atinsă atunci când enzima este saturată de către substratul său.

Cantitatea de blm. produsă este la fel de importantă și stă la originea efectului de inoculum. Un număr mic de bacterii poate fi omorât de o anumită BL, în timp ce în prezența unui număr mare de bacterii (așa cum există în unele focare bacteriene) antibioticul va fi distrus de o

cantitate mare de blm. sintetizată.

Localizarea blm. joacă un rol important în exprimarea rezistenței. La stafilococi și la unele bacterii gram-negative (*Bacteroides*, *Branhamella catarrhalis*) blm. sunt eliberate la exteriorul celulelor bacteriene și pot astfel hidroliza BL din mediul extracelular. Acest fenomen stă la originea patologiei indirecte, responsabile de eșecul tratamentului cu penicilină în cazul exudatelor purulente polimicrobiene sau în unele angine cu streptococ de grup A, din cauza inactivării antibioticului de către blm. produse de flora

comensuală. La enterobacteriacee și la piocianic blm. sunt situate intracelular, în spațiul periplasmatic. Astfel, cinetica de activitate a acestor enzime este mai complicată deoarece intervine și factorul de cripticitate.

Blm. pot fi codificate cromozomial, plasmidic sau prin intermediul transpozoniilor și există astăzi mai multe modalități de a le clasifica (spre bucuria unor microbiologi și exasperarea clinicienilor). Pe baza secvenței de aminoacizi ele pot fi clasificate în 4 clase (**tabelul 1**).

Tabelul 1

Clasele structurale de blm.

Clasa	Substrat preferat	Localizare genetică	Exemple
A	Peniciline, cefalosporine	C, P, T	conține serină la situsul activ; penicilinaze la <i>Staph. Aureus</i> ; blm de tip TEM și SHV
B	Multe BL, inclusiv carbapeneme	C,P	metaloenzime cu Zn; blm. IMP-1
C	cefalosporine	C, P	au serină la situsul activ (diferit de clasa A); blm. AmpC la <i>E. cloacae</i> și alți BGN
D	Peniciline, oxacilină	P,C,T	blm. tip OXA-

În prezent se utilizează clasificarea funcțională a blm. propusă de Bush-Jacoby-Medeiros (**tabelul 2**). Această schemă nu utilizează localizarea genei care codifică blm. ca

un factor primar de clasificare reflectând abilitatea unor gene de a se muta din cromozom în plasmidă și invers.

Tabelul 2

Clasificarea funcțională a blm. (Bush-Jacoby-Medeiros)

Grup	Tip de enzimă	Inhibare de ac. Cluvalanic	Clasa moleculară	Număr de enzimă
1	Cefalosporinaze	NU	C	57
2a	Penicilinaze	DA	A	20
2b	Cu spectru larg	DA	A	16
2be	Cu spectru extins (ESBL)	DA	A	81
2br*	Rezistență la IBL	Diminuată	A	13
2c	Carbencilinaze	DA	A	15
2d	Cloxacilinaze	DA	D sau A	21
2e	Cefalosporinaze	DA	A	19
2f*	Carbapenemaze	DA	A	3
3	Carbapenemaze	NU	B	15
4	Penicilinaze	NU		7

* grupuri noi

Blm. bacteriilor gram-pozitive sunt inductibile, sunt excretate extracelular și hidrolizează preferențial penicilinele. Genele care determină producția acestor blm. se găsesc de obicei în plasmide mici sau în transpozoni. Există și plasmide mari care codifică blm. și alte rezistențe și care pot fi transferate prin conjugare.

1.2.1. Betalactamazele cromozomiale

Sunt produse de aproape toți BGN și au o activitate foarte redusă, determinată de existența unei gene codante pentru un represor, care limitează sinteza blm. Astfel, la tulpinile "clasice" expresia acestei enzime este în mod natural reprimată de către gena represor. Se poate produce o ridicare a represorului în două circumstanțe:

- prin mutații (frecvență de apariție de circa 10^{-7}), producând o stare dereprimată, stabilă și ireversibilă (mutant hiperproducător constitutiv; situație întâlnită la tulpini de *E.*

coli);

- în prezența inductorului, care neutralizează temporar represorul. Se produce o dereprimare reversibilă sub efectul inductorului, reprezentat de unele BL (la tulpini de *Enterobacter*, *Citrobacter freundii*, *Serratia* și *Ps. aeruginosa*)

Ridicarea represorului determină biosinteza la nivel înalt de blm. cromozomiale, care devin astfel de 100 - 1000 de ori mai abundente. Această producție de blm. în cantitate mare în spațiul periplasmatic poate să-și exercite puterea hidrolitică, dacă BL este sensibilă la hidroliză sau poate să inactiveze BL printr-un mecanism nehidrolitic (realizarea unei legături foarte puternice între BL și blm., fără hidroliză).

BGN producători de blm. cromozomiale sunt selecționați prin utilizarea cefalosporinelor din generația a 3-a, în special în mediu spitalicesc. Aceste blm. inactivează cefalosporinele de generația a 3-a rezistente la acțiunea blm. plasmidice clasice. De asemenea, sunt rezistente la acțiunea inhibitorilor

de betalactamaze (IBL).

Recent, gena cromozomială AmpC de la *Enterobacter*, *C. freundii*, *Serratia* și *Ps. aeruginosa* s-a mutat în plasmide descoperite la tulpini de *E. coli* și *Klebsiella pneumoniae*. Aceste tulpini prezintă aceeași multirezistență ca BL ca mutantele dereprimite ale tulpinii mamă pentru gena AmpC (cefamicinaze).

Eficacitatea clinică asupra blm. cromozomiale

Sinteza de blm. de tip cromozomială determină o reducere a sensibilității microorganismelor față de BL.

Astfel, asocierile de ureidopeniciline cu IBL rămân active doar dacă tulpina este sensibilă la ureidopenicilină (asocierea IBL nu are efect suplimentar). Față de cefalosporinele din generația a 3-a rezistența clinică a apărut la 20% din tulpinile de *Enterobacter* implicate în sepsis. Cefalosporinele din generația a 4-a au afinitate redusă față de blm. cromozomiale, semnalându-se 100% răspuns clinic favorabil și 88% răspuns microbiologic. Carbapenemele rămân BL active față de aceste microorganisme (nu și față de unele tulpini de *Ps. aeruginosa* cu probleme de permeabilitate).

1.2.2. Betalactamazele plasmidice

Toate blm. plasmidice sunt de tip constitutiv și sunt astăzi cele mai preocupante pentru practica antibioticoterapiei cu BL. Pot fi clasificate în 7 tipuri:

1. Cu spectru larg:

Sunt responsabile de rezistența la ampicilină și la cefalosporinele din generația 1. Blm. plasmidice cele mai frecvent întâlnite sunt TEM-1 la enterobacteriacee și *Ps. aeruginosa*, TEM-2 și SHV-1 la enterobacteriacee.

2. Oxacilinaze

Principalul reprezentant este OXA-1 la enterobacteriacee (a 2-a ca frecvență la *E. coli*) și la *Ps. aeruginosa*. Până astăzi au fost semnalate alte 9 astfel de enzime (OXA-2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10).

3. Carbenicilinaze:

Hidrolizează preferențial penicilinele anti-piocianic. Au fost descrise PSE-1 (este cea mai frecventă la *Ps. aeruginosa*), PSE-2, -3 și -4, BRO-1, -2, -3 (la *Branhamella catrrhalis*), CARB-3, -4, -5.

4. Cu spectru extins (ESBL):

Au apărut prin mutații ale blm. de tip TEM, SHV și OXA. Astfel, ESBL-urile diferă de blm. de tip TEM sau SHV prin una până la 4 substituții ale acizilor aminați, care modifică specificitatea substratului. *Klebsiella pneumoniae* este de departe specia cea mai frecvent producătoare de ESBL; transmisibilitatea plasmidelor care codifică ESBL-uri a permis extinderea rapidă a acestui tip de rezistență și la alte enterobacteriacee, precum și la *Ps. aeruginosa*. Există astăzi circa 75 de derivate TEM, 24 de SHV și 10 de OXA (OXA-11 -> OXA-20 la *Ps. aeruginosa*).

Sinergia dintre IBL și cefotaximă, ceftazidimă sau aztreonam permite detectarea in vitro a tulpinilor producătoare de ESBL. Ceftazidima rămâne cel mai bun antibiotic pentru detectarea producției de ESBL.

Între ESBL-urile de tip TEM și SHV există diferențe considerabile în ceea ce privește nivelul de rezistență pe care îl conferă față de unele BL. Astfel, ESBL-urile de tip SHV sunt mai puternice, conferind niveluri mari de rezistență la cefotaximă, ceftazidimă și aztreonam, antibiotice utilizate pentru diferențierea celor două tipuri de blm.

Prin mutații ale blm. de tip TEM la tulpinile de *E. coli* au apărut ESBL-urile care conferă rezistență la inhibitorii

de betalactamaze (TEM-30 -> TEM-40; TEM-44 și TEM-45).

Cu excepția mutantelor TEM care conferă rezistență la IBL toate celelalte ESBL-uri sunt sensibile la acțiunea celor trei inhibitori de betalactamaze (ac. clavulanic, sulbactam și tazobactam). Dintre aceștia, ac. clavulanic este cel mai potent. Sulbactamul are o eficacitate parțială, mai ales asupra tulpinilor producătoare de mutante de tip SHV.

Sinteza de ESBL-uri a lărgit spectrul germenilor rezistenți la BL. Deschiderea mai mare de la nivelul situsului activ permite pătrunderea catenelor laterale ale cefalosporinelor din generația a 3-a (care sunt astfel inactivate) dar nu și a IBL (fapt care explică eficiența acestora). Sinteza acestui tip de blm. determină adesea un nivel redus de rezistență, înșelătoare clinic. Prezența unui inocul bacterian mai mare conduce la creșteri semnificative ale CMI-urilor. Astfel, o creștere a inoculului bacterian de la 10^5 la 10^7 determină o creștere de 16 ori a CMI-ului.

Eficacitatea clinică asupra tulpinilor producătoare de ESBL-uri

Față de tulpinile producătoare de ESBL-uri asocierile de BL cu IBL sunt teoretic active. În practică se asociază frecvent cu reducerea permeabilității peretelui bacterian (care reduce accesul IBL) sau cu hiperproducția de blm.

Utilizarea cefalosporinelor din generația a 3-a conduce sigur la eșec terapeutic. Cefalosporinele din generația a 4-a rămân active in vitro; totuși, pentru 2 din 3 tulpini valorile CMI-urilor sunt ușor crescute, fapt care poate conduce la probleme dacă se asociază și pierderea de porine sau dacă inoculul bacterian este foarte mare ($>10^7$).

Carbapenemele rămân BL active, mai puțin în cazul prezenței carbapenemazelor.

5. Diverse

Sunt blm. care nu sunt legate de cele de tip TEM, SHV sau OXA.

O blm. denumită MEN-1, izolată de la o tulpină de *E. coli* dintr-o secție de oncologie prezintă 72% similitudine structurală cu enzimele de origine cromozomială ale *Klebsiellei oxytoca*. Enzima CTX-1, descrisă ca cefotaximă este similară cu MEN-1 și poate avea aceeași origine. Cefotaxima CTX-M2 seamănă cu CTX-M1 dar este sensibilă la acțiunea IBL.

6. Cefamicinaze

Aceste enzime sunt produse de tulpini de *K. pneumoniae* sau de *E. coli* rezistente la cefamicine, cefalosporine din generația a 3-a și la aztreonam. Ele sunt exprimate constitutiv dar au proprietăți similare cu ale cefalosporinelor cromozomiale (profilul de rezistență la BL și absența de sinergie cu IBL).

Genele codificante pentru MIR-1 și BIL-1 au o structură similară cu gena ampC de la *Enterobacter cloacae*; gena codificantă pentru CMY-2 este înrudită cu gena ampC de la *Citrobacter freundii* iar enzima MOX-1 este codificată de o genă apropiată de gena ampC de la *Ps. aeruginosa*. Enzima MOX-1 prezintă un pericol mai mare decât alte blm. din cauza puternicei sale activități hidrolitice.

7. Carbapenemaze plasmidice (sunt discutate în paragrafele următoare).

1.2.3. Carbapenemaze

Sunt blm. care hidrolizează carbapenemele. Sunt de două tipuri: metaloenzime și nonmetaloenzime.

1. Metaloenzime

Sunt reprezentate de IMP-1, descrisă la tulpinile de *Ps.*

aeruginosa. Are spectrul cel mai larg (nu hidrolizează aztreonamul) și a fost identificată în Japonia încă din anii 1988 - 1991; circa 1,3% din tulpinile de piocianic posedau această enzimă în anul 1997. Este determinată cromozomial sau plasmidic și a fost identificată recent și la tulpini de *Serratia* (4,4%) și *Klebsiella*. Rezistența determinată de prezența acestei enzime este variabilă, necesitând adesea și reducerea simultană a permeabilității bacteriene pentru obținerea unor niveluri înalte de rezistență. Nu este influențată de prezența IBL. În 1999 această enzimă a fost identificată în Italia la o tulpină de *Acinetobacter baumannii*.

VIM-1 are o structură asemănătoare și a fost izolată în Italia de la alte specii decât *Ps. aeruginosa*: este purtată de transpozoni. VIM-2, izolată de la alte specii decât *Ps. aeruginosa* este actualmente cea mai răspândită carbapenemază în Europa.

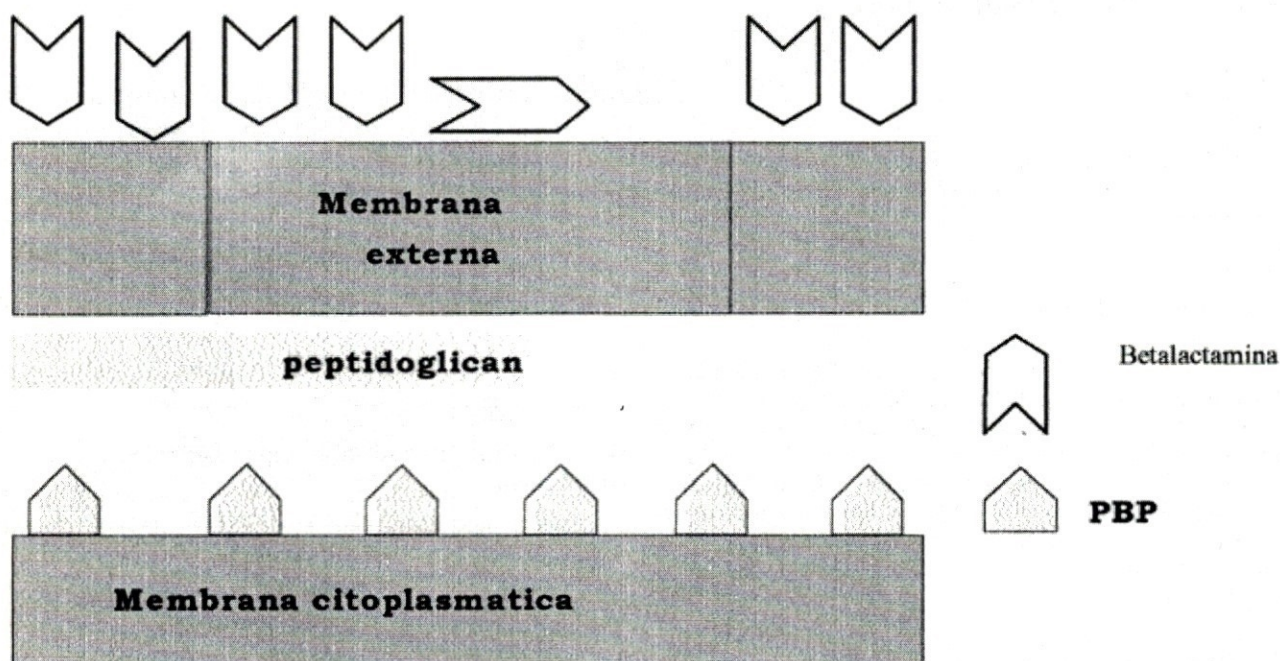


Figura 5. Rezistența la betalactamine prin modificarea permeabilității peretelui bacterian

La *Ps. aeruginosa* pierderea porinei Opr D conduce la rezistență la imipenem (dacă se asociază și activitate betalactamazică); meropenemul rămâne activ, având un CMI mai mic de 4 μg/ml.

După tratament cu imipenem 12 din 13 tulpini de *Enterobacter aerogenes* au pierdut porinele și au devenit rezistente la imipenem și la cefepimă. La întreruperea tratamentului 2 din 3 tulpini își recapătă sensibilitatea inițială.

1.4. Efluxul betalactaminelor

Rolul efluxului de BL a fost mult timp ignorat în dezvoltarea rezistenței bacteriene, deși importanța lui a fost semnalată în diverse publicații apărute în ultimii 4 - 5 ani. În figura 6 este prezentat mecanismul de funcționare al unui sistem de eflux. Acest mecanism este important mai

2. Nonmetaloenzimele

Sunt reprezentate de ARI-1, ARI-2 (identificate la tulpini de *Acinetobacter*) și IMI-1. Sunt inhibate de către IBL iar tulpinile care posedă aceste blm. sunt sensibile la ceftazidimă și rezistente la aztreonam. Ele sunt mai active asupra imipenemului dar deocamdată sunt mai puțin importante în practica terapeutică.

1.3. Reducerea permeabilității peretelui bacterian

Bariera de permeabilitate este determinată de structura lipopolizaharidică a peretelui BGN. În acest context porinele au un rol esențial pentru pătrunderea antibioticilor hidrofile având importanță numărul și tipul de porine precum și caracteristicile antibioticului (fig. 5). Sunt defavorizate moleculele mari, încărcate negativ și sunt favorizate moleculele mici: cefepima și carbapenemele.

ales pentru *Ps. aeruginosa*, care prezintă cel puțin 3 sisteme de eflux:

- Mex A - Mex B - Opr M (determină rezistență intrinsecă);
- Mex C - Mex D - Opr J (determină rezistență câștigată);
- Mex E - Mex F - Opr N (determină rezistență câștigată, neexprimată la tulpinile sălbatice).

Mecanismul de eflux Mex AB - Opr M scoate în spațiul extrabacterian toate BL, mai puțin imipenemul iar Mex CD - Opr J determină efluxul cefalosporinelor din generația a 3-a și a-4-a dar nu al aztreonamului.

Construind mutante care hiperexprimă un sistem și nu îl produc pe celălalt s-a putut stabili importanța porinelor și respectiv a efluxului de BL în apariția rezistenței la carbapeneme (tabelul 3).

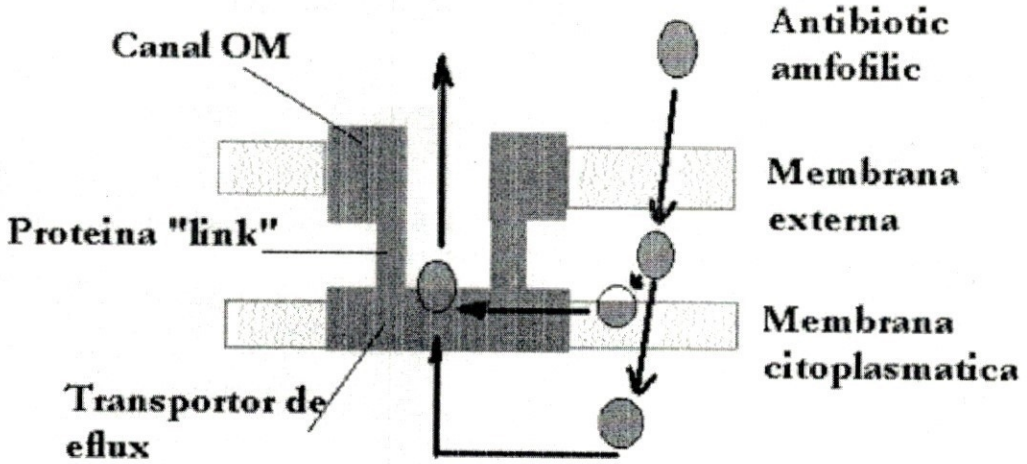


Figura 6. Mecanismul de eflux

Tabelul 3

Influența porinelor și a efluxului asupra CMI de imipenem și meropenem

	Fără eflux	Eflux+	Eflux++		Fără eflux	Eflux+	Eflux++
	Porină+	+	+		Porină-	-	-
CMI:							
Imipenem	1	1	1		16	16	16
Meropenem	0,125	0,5	4		0,5	4	16

Astfel, dacă permeabilitatea nu este afectată (porină +) CMI de imipenem nu este afectată de prezența sau absența mecanismului de eflux; în schimb, CMI de meropenem crește numai în cazul hiperexpresiei mecanismului de eflux. Se demonstrează astfel că rezistența la imipenem este determinată în principal de afectarea permeabilității peretelui bacterian, în timp ce rezistența la meropenem apare într-o etapă secundară și este dependentă de hiperexpresia efluxului de BL.

sunt mai puțin sensibile și la asocierile cu BL cu IBL, precum și la cefalosporinele cu spectru largit.

2. Relevanța clinică și consecințele terapeutice ale rezistenței bacililor gram-negativi la betalactamine

2.2. E. coli, Klebsiella spp. și Proteus mirabilis

2.1. H. influenzae

Rezistența la BL a *H. influenzae* apare prin: producția de blm., modificări ale PBL-urilor și reducerea permeabilității peretelui bacterian față de aceste antibiotice.

Rezistența la ampicilină și la cefalosporinele vechi este determinată de prezența blm. cu spectru largit (TEM-1 pentru *E. coli* și *Proteus mirabilis* și SHV-1 pentru *Klebsiella*). În unele regiuni rezistența la ampicilină a *E. coli* apare la peste 75% dintre tulpini.

Rezistența acestor specii la asocierile cu BL cu IBL este determinată de reducerea permeabilității peretelui bacterian, de hiperproducția de blm. de tip TEM și SHV sau de prezența blm. mutante de TEM (25 - 49% din tulpinile de *E. coli*).

Producția de blm. de tip TEM-1 este cea mai importantă, acoperind peste 90% din tulpinile ampicilino-rezistente (în special tipul capsular b). ROB-1 are un profil similar TEM-1 și apare la aproximativ 80% din tulpinile producătoare de blm. din Statele Unite ale Americii (și mai puțin în alte regiuni ale globului). Tulpinile producătoare de blm. rămân sensibile la asocierile de BL cu IBL și la cefalosporinele cu spectru largit.

Prevalența tulpinilor producătoare de ESBL-uri depășește 74% în unele regiuni din lume. Există un risc crescut de a câștiga o infecție cu tulpini producătoare de ESBL-uri în cazul spitalizărilor prelungite, după intervențiile chirurgicale, în cazul expunerilor anterioare la antibiotice, după investigații instrumentale invazive, precum și la bolnavii internați în secții de ATI. Prezența ESBL-urilor asociază rezistență și la alte antibiotice: aminoglicozide, fluorchinolone și cotrimoxazol.

Modificările PBP-urilor determină rezistența la ampicilină și la cefuroximă (mai puțin de 6% din cazurile de rezistență la ampicilină). Acest mecanism de rezistență este mai frecvent întâlnit la tulpinile neincapsulate. Aceste tulpini

Tulpinile de *Klebsiella* și de *E. coli* posedă blm. de tip ampC cromozomiale purtate în plasmide. Plasmidele care conferă această rezistență codifică de asemenea rezistența la aminoglicozide, cloramfenicol, tetraciline și cotrimoxazol. Carbapenemele sunt singurele BL active contra microorganismelor producătoare de astfel de blm.

2.3. Enterobacteriaceele de blm. inductibile

Cele mai frecvente blm. codificate cromozomial izolate de la enterobacteriacee sunt blm. inductibile ampC; ele sunt caracteristice pentru *Enterobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, *Providencia spp.*, *Morganella morgani* și *Serratia spp.*

Rezistența la cefalosporinele cu spectru lărgit și la aztreonam apare când mutantele producătoare de niveluri mari de enzimă sunt selectate în timpul terapiei. Fenomenul apare la 14 - >50% dintre bolnavii infectați cu un microorganism care posedă o blm. inductibilă și care sunt tratați cu o cefalosporină nouă. Această rată mare de rezistență este întâlnită în infecțiile tractului respirator, în fibroza chistică și la bolnavii neutropenici. Din nefericire folosirea unui aminoglicozid în combinație cu o cefalosporină în tratamentul infecțiilor cu microorganisme care posedă blm. inductibile de tip ampC nu previne emergența rezistenței.

Rezistența nu apare la toți bolnavii infectați cu o tulpină care posedă blm. inductibilă deoarece mijloacele de apărare normală sunt suficiente pentru eliminarea celulelor mutante care se găsesc în număr mic la începutul infecției. Rezistența apare mai ales la bolnavii imunocompromiși și ea poate fi detectată după o zi sau necesită câteva săptămâni pentru dezvoltare.

Prevalența crescută a *Enterobacter spp.* ca patogen nosocomial este legată de problemele clinice ridicate de microorganisme cu blm. ampC inductibile. *Enterobacter spp.* este al 3-lea patogen al tractului respirator, al 4-lea în plăgile chirurgicale (10,3%) și al 5-lea în sepsis (5,3%).

Bolnavii cu risc de a câștiga o infecție cu *Enterobacter* sunt cei cu spitalizare prelungită, cu boli severe subiacente, și cu imunosupresie. Totuși, cel mai frecvent factor de risc citat pentru câștigarea unei infecții cu *Enterobacter* rămâne utilizarea anterioară de antibiotice, în special de cefalosporine.

Experiența clinică sugerează că cefalosporinele din generația a 2-a și a 3-a sunt contraindicate în infecțiile cunoscute sau presupuse a fi determinate de tulpini de *Enterobacter* producătoare de blm. inductibile. Infecțiile severe, determinate de tulpini sensibile pot să răspundă la combinația unei ureidopeniciline cu un aminoglicozid, la o fluorochinolonă sau la carbapeneme. Tulpinile multirezistente necesită utilizarea unei carbapeneme sau o flurochinolonă, de regulă în combinație cu un aminoglicozid. Cefepimă pare promițătoare în infecțiile cu *Enterobacter spp.*

2.4. Enterobacteriacee rezistente la carbapeneme

Rezistența la carbapeneme a enterobacteriaceelor este rară (<5% în lume), în ciuda creșterii utilizării acestor antibiotice. Toate cele trei mecanisme de rezistență la BL (modificări ale PBP-urilor, reducerea permeabilității peretelui bacterian și hidroliza enzimatică) au fost descrise la tulpinile de enterobacteriacee rezistente la carbapeneme.

Hiperproducția unei blm. ampC, în combinație cu reducerea permeabilității peretelui bacterian par să fie implicate în rezistența la imipenem a tulpinilor de *Enterobacter* și *Serratia*.

Carbapenemaze din grupul nonmetaloenzimelor, codificate cromozomial au fost identificate la tulpini de *Enterobacter* și *Serratia* iar tulpini de *Proteus mirabilis* cu PBP 2 modificate și afinitate redusă pentru imipenem au fost izolate în Franța.

2.5. Bacili gram-negativi nonfermentativi

Ps. aeruginosa este intrinsec mai rezistent la antibiotice din cauza impermeabilității mai mari a peretelui bacterian. Impermeabilitatea peretelui extern în combinație cu un sistem activ de eflux sunt responsabile de multirezistența la BL. Prezența mecanismului de eflux activ determină rezistență încrucișată cu alte antibiotice dar nivelul de rezistență la BL este mai redus decât în cazul sintezei de blm.

Rezistența la BL a tulpinilor de *Ps. aeruginosa* variază mult în lume. Rate mari au fost identificate în unitățile de ATI și de fibroză chistică. În Statele Unite ale Americii rezistența variază între 5 - 30% pentru piperacilină, 0,3 - 19% pentru ceftazidimă și 10-17% pentru imipenem.

Rezistența la BL implică adesea și producția de blm. (mediate plasmidic sau cromozomial). Cel puțin 20 de blm. mediate plasmidic distincte au fost descrise la *Ps. aeruginosa*, unele fiind active față de cefalosporinele cu spectru lărgit sau de imipenem. Prevalența blm. mediate plasmidic la tulpinile de *Ps. aeruginosa* este mai mică de 10%, dar crește la peste 20% în cazul tulpinilor rezistente la carbenicilină. Tulpinile producătoare de ESBL-uri sunt rezistente la cefalosporinele din generația a 3-a iar sensibilitatea la cele din generația a 4-a rămâne sub semnul întrebării (se asociază și modificări de permeabilitate sau hiperproducție de blm.). Tulpinile producătoare numai de carbenicilinaze rămân sensibile la ceftazidimă.

Ps. aeruginosa produce o blm. ampC inductibilă, similară cu cea găsită la tulpinile de *Enterobacter spp.* și *Serratia spp.* Selecția mutantelor derepresate hiperproducătoare de blm. este responsabilă de rezistența la cefalosporinele cu spectru lărgit, din generația a 3-a și chiar a 4-a. Acest fenomen este întâlnit la bolnavii tratați anterior cu peniciline anti-piocianic sau cu cefalosporine anti-piocianic. Utilizarea unei combinații cu un aminoglicozid nu previne emergența rezistenței.

Ps. aeruginosa dezvoltă rezistența la imipenem în timpul tratamentului cu acest antibiotic. Mecanismul responsabil pentru acest fenomen este specific pentru carbapeneme și implică o modificare a permeabilității acestui microorganism pentru antibiotic prin pierderea porinelor Opr D. Rata de apariție a rezistenței poate depăși 50%, în special dacă infecția este localizată la nivelul tractului respirator.

Au fost izolate tulpini de *Ps. aeruginosa* rezistente la imipenem prin producția de metalo-blm. mediate plasmidic; unele dintre aceste tulpini sunt rezistente și la alte BL anti-piocianic și posedă mecanisme adiționale de rezistență (hiperproducția de blm. ampC și pierderea porinei specifice pentru carbapeneme).

Modificarea PBP-urilor poate fi implicată în rezistența unor tulpini de *Ps. aeruginosa* la BL. Astfel, creșterea numărului de PBP3 reduce eficacitatea antibioticelor necarbapenemice și favorizează acțiunea meropenemului.

Stenotrophomonas maltophilia este un important patogen emergent, în special în zone cu mare utilizare a antibioticelor cu spectru larg. Analiza factorilor de risc a arătat că pacienții ventilați mecanic în unități de ATI și care primesc antibiotice (în special carbapeneme), cei cu cateter venos central și cei cu neoplasme care au primit imipenem sunt la risc crescut pentru infecții cu acest microorganism. El produce două enzime cromozomiale inductibile: o cefalosporinază și o metalo-blm. capabilă să hidrolizeze peniciline și carbapeneme. Aceste enzime conferă rezistență mare la penicilinele vechi, cefalosporine ca cefotaximă și ceftriaxonă

și la imipenem. Tulpinile pot fi sensibile la piperacilină, ceftazidimă și la unele combinații de BL cu IBL, depinzând de nivelul de expresie al blm. cromozomiale.

Concluzii

Rezistența la betalactamine, în special a bacililor gram-negativi este în creștere, în paralel cu introducerea, utilizarea și suprautilizarea antibioticelor noi din această familie. Totuși, rezistența la betalactamine trebuie controlată printr-o supraveghere atentă pe plan local a fenomenului, prin ameliorarea posibilităților de diagnosticare a rezistenței la betalactamine precum și a mecanismelor implicate în dezvoltarea acestei rezistențe, printr-o utilizare mai atentă a noilor compuși, în special a celor cu spectru ultra-larg de administrare orală.

BIBLIOGRAFIE

1. **H.S. Gold, R.C. Moellering:** Antimicrobial Drug Resistance; *The New England Journal of Medicine*, 1996; 335

(19): 1445 - 1553

2. **J.D.D. Pitout, C.C. Sanders, W.E. Sanders:** Antimicrobial Resistance with Focus on beta-Lactam Resistance In Gram-Negative Bacilli: *The American Journal of Medicine*: 1991; 103: 51 - 59

3. **D. Siro:** Beta-lactamases plasmidiques a spectre etendu: *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1995; 36 Suppl. A.: 19 - 34

4. **T. Kohler, M. Michea-Hamzehpour, S. F. Epp., J.C. Pechere:** Carbapenem Activities against *Ps. aeruginosa*: Respective Contributions of OprD and Efflux Systems: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1999; vol. 43, Nr. 2: 424 - 427

5. **Y. Van Laethem:** Le point de vue d'un clinicien sur la resistance des bacilles gram negatifs nosocomiaux aux betalactamines. *Service des Maladies Infectieuses C.H.U. Saint Pierre, Bruxelles, Cours*. 2001

6. **C. Stratton:** New Insights on the Emergence of Resistance in the Community: *41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, December 16 - 19 2001, Chicago*