

REZISTENȚA
LA ANTIMICROBIENE.
CARACTERISTICA REZISTENȚEI
LA PREPARATE ANTIMICROBIENE
A BACTERIILOR GRAM-NEGATIVE

Victoria BUCOV¹, Olga BURDUNIUC¹, Greta BALAN²,
Maria GRUMEZA², Olga CRACIUN¹, Maria BIVOL¹

¹ Agenția Națională pentru Sănătate Publică,
Chișinău, Republica Moldova

² Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
Nicolae Testemițanu

[https://doi.org/10.52556/2587-3873.2021.1\(88\).06](https://doi.org/10.52556/2587-3873.2021.1(88).06)

Rezumat

Scopul articolului este reviuul literaturii privind rezistența bacteriilor Gram-negative la preparate antimicrobiene. Au fost analizate 131 de surse, inclusiv documentele OMS și publicații științifice. Rezistența bacteriană rămâne o amenințare semnificativă și o cauză principală de deces la nivel mondial. Bacteriile rezistente proliferază prin selecție naturală atunci când cele sensibile la medicamente sunt îndepărtate de antibiotice. Aceste organisme se pot răspândi în toate unitățile de îngrijire a sănătății, precum și în comunitate, fapt ce necesită o atenție sporită la măsurile de control al infecțiilor și administrarea medicamentelor care conțin β -lactam în efortul de a controla selecția de agenți patogeni și mai nocivi. Au fost raportate mai multe strategii pentru combaterea și controlul bacteriilor Gram-negative rezistente, cum ar fi dezvoltarea agenților auxiliari antimicrobieni, modificarea structurală a antibioticelor existente, cercetarea și studiul structurilor chimice cu noi mecanisme de acțiune. Pe lângă terapia nouă, un sistem eficient de control al infecțiilor, alături de utilizarea prudentă a preparatelor antimicrobiene, este extrem de important.

Cuvinte-cheie: preparate antimicrobiene, bacterii gram-negative, rezistență

Summary

Antimicrobial resistance. Characteristic of resistance to antimicrobial preparations of Gram-negative bacteria

The scope is the literature review on the resistance of Gram-negative bacteria to antimicrobial preparations is presented. 131 different materials were analyzed, including WHO documents and scientific publications. Bacterial resistance remains a significant threat and a leading cause of death worldwide. Resistant bacteria proliferate by natural selection when drug-sensitive ones are removed by antibiotics. These organisms can be spread to all health care facilities as well in community, which requires increased attention to infection control measures and the administration of β -lactam-containing medicines in an effort to control the selection of other even more harmful pathogens. Several strategies for combating and controlling Gram-negative resistant bacteria have been reported, such as the development of antimicrobial auxiliaries, structural modification of existing antibiotics, research and study of chemical structures with new mechanisms of action. In addition to new therapy, an effective infection control system, along with the prudent use of antimicrobials, is extremely important.

Keywords: antimicrobial preparations, gram-negative bacteria, resistance

Резюме

Устойчивость к противомикробным препаратам. Характеристика устойчивости к антимикробным препаратам грамотрицательных бактерий

Целью статьи является обзор литературы по устойчивости грамотрицательных бактерий к антимикробным препаратам. Был проанализирован 131 источник, включая научные публикации и материалы ВОЗ. Бактериальная резистентность остается серьезной угрозой и основной причиной смертности во всем мире. Устойчивые бактерии накапливаются путем естественного отбора, когда чувствительные к лекарствам бактерии удаляются антибиотиками. Эти организмы могут распространяться во всех медицинских учреждениях и в окружающей среде, что требует повышенного внимания к мерам контроля, к применению β -лактамосодержащих лекарств, чтобы контролировать появление еще более устойчивых патогенов. Опубликовано несколько стратегий борьбы с грамотрицательными устойчивыми бактериями, таких как разработка противомикробных вспомогательных средств, структурная модификация существующих антибиотиков, исследование и изучение химических препаратов с новыми механизмами действия. Наряду с новой терапией, чрезвычайно важна эффективная система надзора и контроля инфекций и разумное использование противомикробных препаратов.

Ключевые слова: противомикробные препараты, грамотрицательные бактерии, резистентность

Rezistența la preparatele antimicrobiene reprezintă o enormă criză globală în sănătatea publică și una dintre cele mai grave amenințări cu care se confruntă oamenii astăzi. Medicina modernă a determinat evoluția suplimentară a rezistenței antimicrobiene prin consumul excesiv de antibiotice [1-3].

În 2017, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a publicat o listă de agenți patogeni prioritari rezistenți la preparate antimicrobiene, care prezintă o mare amenințare pentru om și care necesită urgent antibiotice noi, lista fiind clasificată în funcție de urgența necesității de antimicrobiene noi, ca prioritate critică, înaltă și medie. O parte prealabilă a acestei liste include agenții patogeni Gram-negativi. Datorită structurii lor distinctive, bacteriile Gram-negative sunt mai rezistente decât cele Gram-pozitive și provoacă morbiditate și mor-

talitate semnificative la nivel mondial. Plus la aceasta, apar și alte întrebări. De curând a fost determinată incidența rezistenței antimicrobiene recent dobândite a bacteriilor aerobice Gam-negative potențial patogene [1, 4].

În ultimii ani, creșterea numărului de boli infecțioase a devenit o problemă globală. Numărul mare de antibiotice epuizate, cazurile rapide și complexe de rezistență antimicrobiană, apariția și reapariția bolilor infecțioase au condiționat necesitatea urgentă a dezvoltării de noi preparate antimicrobiene, de preferință cu posibilități sporite de acțiune [5, 6].

Rezistența la antibiotice majorează costurile de sănătate, severitatea infecțiilor și ratele de deces. S-a estimat că, până în 2050, din cauza rezistenței antimicrobiene, vor avea loc zece milioane de decese premature, cu un cost cumulativ de 100 de trilioane de dolari. Terapia antimicrobiană trebuie să se bazeze pe rezultatele supravegherii rezistenței la medicamente [3, 7].

Obiectivul articolului dat este reviu literaturii privind rezistența la preparate antimicrobiene a bacteriilor Gram-negative. Materialele prezentate pot servi drept fundal pentru definirea direcțiilor de cercetare în acest domeniu și pentru elaborarea măsurilor de reducere a nivelului de antibioretistență.

Material și metode

Au fost analizate 131 de surse pe problemele rezistenței bacteriilor Gram-negative la preparate antimicrobiene din cadrul platformelor științifice Embase, PubMed, Hinari și fondurile bibliotecilor naționale. Materialele analizate includ documentele OMS și ale altor organizații internaționale, publicații științifice din anii 1996-2020.

Rezultate și discuții

Informații generale. Rezistența bacteriilor Gram-negative la preparate antimicrobiene este considerată un fenomen alarmant, care trebuie abordat urgent pentru a dezvolta soluții terapeutice eficiente [8]. Plus la aceasta, se observă transformarea unor bacterii nepatogene în cele patogene. Astfel, genul *Myroides* cuprinde mai multe specii de bacterii Gram-negative, considerate nepatogene. Dar rapoartele recente evidențiază potențialul patogen al *Myroides sp.* pentru oameni. Aceste bacterii par a fi rezistente la o gamă largă de antimicrobiene, inclusiv β -lactamele și aminoglicozidele [9].

În ultimii ani, β -lactamele cu spectru extins (BLSE) de tip CTX-M au apărut la nivel mondial și au înlocuit BLSE-uri clasice determinate de genele TEM și SHV în multe țări. Gena CTX-M-15 este în prezent cel mai frecvent întâlnită, cu o distribuție pandemică,

iar răspândirea sa rapidă este facilitată de încorporarea genelor de rezistență în elementele genetice mobile [10, 11].

La analiza distribuției și rezultatelor testelor de sensibilitate a 272 de tulpini de bacterii Gram-negative izolate de la copii cu bronhopneumonie, au fost mai frecvent izolate *Klebsiella pneumoniae* și *Escherichia coli*. Rata de producție a β -lactamazei cu spectru extins constituia 52,9%. În comparație cu tulpinile care nu produc enzime ce le conferă rezistență, tulpinile producătoare de BLSE-uri au avut o rată semnificativ mai mare de rezistență la multe antibiotice, cu excepția amikacinei și a meropenemului ($P < 0.05$). Rezistența *Escherichia coli* a devenit o problemă îngrijorătoare pentru medicina umană și cea veterinară, la nivel mondial [7, 12].

Antibioticele β -Lactame au fost utilizate pe scară largă ca agenți terapeutici în ultimii 70 de ani, ceea ce a provocat apariția unei abundențe de β -lactamaze inactivatoare care sunt cele mai semnificative în bacteriile Gram-negative. Genele acestor enzime sunt codificate pe elementele mobile care se transmit ușor între specii. Familiile majore de β -lactamaze includ β -lactamele cu spectru extins, cefalosporinazele AmpC și carbapenemazele [13].

Într-un studiu au fost determinate concentrațiile minime inhibitoare de antibiotice utilizate pe scară largă, folosind izolate clinice de *Escherichia coli*. Multidrogrezistența, definită ca rezistență la trei sau mai multe clase de antimicrobiene; a fost observată în următoarea ordine: *A. baumannii* (96%), *P. aeruginosa* (65%), *E. coli* (52%) și *K. pneumoniae* (7%) [14].

La examinarea a 257 de izolate clinice din răni (speciile *Staphylococcus aureus*, $n=87$, *Escherichia coli*, $n=76$), cu utilizarea a cincisprezece antimicrobiene *E. coli*, izolatul clinic Gram-negativ a fost prezent în 25%, cu 31,25% rezistență la ceftriaxona și cefuroximă. La speciile *Klebsiella*, respectiv, 71,4% și 64,3%. S-a constatat că la aminoglicozide sensibilitatea este mai înaltă. Aproape toate izolatele au fost sensibile la quinonole, precum ofloxacină și enoxacină [15].

La studierea prevalenței diferitor agenți cauzali și a rezistenței la antimicrobiene a uropatogenilor a fost evidențiat că 90,2% au fost bacili Gram-negativi, și anume *Escherichia coli* (37,6%), *Klebsiella pneumoniae* (16,7%), *Proteus mirabilis* (4,1%), *Pseudomonas aeruginosa* (5,8%), *Enterobacter cloacae* (2,6%), *Enterococcus faecalis* (2,9%) și *Staphylococcus aureus* (3,3%). În general, s-a observat rezistența la cel puțin 2 medicamente în 91,3%. Rezistența a fost frecvent observată la ampicilină (89,9%), oxacilină (75,6%), piperacilină (85,4%), clindamicină (56,1%), amoxicilină/acidul clavulanic (74,5%) și trimetoprimul/sulfametoxazolul (50,4%) [16].

Intr-un studiu de cohortă efectuat pe parcursul a 21 de ani s-a stabilit că 86% din 14.015 pacienți au fost tratați cu antimicrobiene. Din 20.593 de izolate majoritatea au fost prelevate din tractul digestiv (41,9%) și spută (21,1%), cel mai frecvent *Escherichia coli* (N=6409) și *Pseudomonas* (N=5269). Rata incidenței rezistenței dobândite pentru cefalosporine la 1000 de pacienți pe zi a fost de 2,03%, pentru polimixin B/colistină – 0,51%, pentru tobramicină – 2,59% și pentru ciprofloxacina – 2,2% [4].

Din 65 de izolate recuperate de la persoane spitalizate, 19% au fost rezistente la carbapenem și 16% au purtat o genă la NDM-1, confirmând distribuția pe scară largă a producătorilor de NDM. Asocierea genelor de rezistență la carbapenem NDM, împreună cu β -lactamază cu spectru extins CTX-M-15 și 16S rRNA metilaze, a fost frecventă, explicând modelul de multidrogrezistență observat. Toate izolatele au rămas sensibile la colistin [17].

Așadar, multidrogrezistența bacteriilor Gram-negative este o problemă majoră la nivel global. Cu toate acestea, se știe puțin despre probabilitatea combinată de rezistență la diferite antibiotice.

Metode de cercetare și mecanismele rezistenței la antibiotice. Detectarea rapidă și fenotipizarea microbilor patogeni este esențială în instituirea unei terapii eficiente și pentru stoparea răspândirii rezistenței la antimicrobiene. Tehnologiile de secvențiere joacă un rol crucial în supravegherea bolilor infecțioase, grație capacităților de a caracteriza mecanismele genetice care stau la baza virulenței și rezistenței microorganismelor [18, 19].

O altă metodă nouă este bazată pe extragerea lipidelor din membranele microbiene folosind un tampon apos de acetat de sodiu, care poate fi utilizat pentru a identifica agenții patogeni Gram-pozitivi și negativi și a diferenția tulpinile sensibile și cele rezistente la antibiotice [20].

Este elaborată metoda rapidă de testare a sensibilității la antibiotice prin electroanaliză, cu o durată de 15 minute, care este monitorizată în direct prin video-microscopie. Metoda propusă a fost aplicată cu succes pentru *Bacillus subtilis* Gram-pozitive și *Escherichia coli* Gram-negative [21].

O metodă propusă recent este bazată pe utilizarea coeficientului de refracție; nu necesită etape complicate de pregătire, etichetare sau procesare și durează 2-4 ore. Folosirea acestei metode face posibilă detectarea densității celulare extrem de mici (densitate optică $\geq 5 \times 10^{-7}$) care corespunde la aproximativ 20 de celule bacteriene sau unei singure celule fungice în volumul investigat, ceea ce este cu aproape 4 ordine de magnitudine mai sensibil decât metoda-standard [22].

Mecanismele rezistenței O cauză principală a rezistenței la medicamente este utilizarea excesivă a antibioticelor care poate duce la alterarea permeabilității microbiene, inducerea enzimelor care distrug antibioticele.

Pentru a supraviețui, speciile Gram-negative posedă mai multe instrumente de rezistență la antibiotice: produc enzime degradante și modificatoare, își reduc permeabilitatea sau expulzează moleculele medicamentoase. Bacteriile rezistente proliferază prin selecție naturală atunci când cele sensibile la medicamente sunt îndepărtate de antibiotice [2, 23].

Klebsiella pneumoniae este un agent patogen oportunist cunoscut pentru frecvența ridicată și diversitatea genelor de rezistență la antimicrobiene. *K. pneumoniae* este specia la care au fost descoperite pentru prima dată mai multe gene noi de rezistență (de exemplu, genele cu rezistență la carbapenem KPC, OXA-48 și NDM-1). Prin urmare, se propune ipoteza că acesta joacă un rol-cheie în diseminarea genelor de rezistență antimicrobiană de la microbi de mediu la agenți patogeni importanți din punct de vedere clinic [24].

A fost dezvoltat un sistem microfluidic gradient care permite urmărirea pe termen lung a morfologiei unicelulare sub o gamă largă de concentrații de inhibitori. S-au calculat ratele de creștere bacteriană în baza variațiilor masei celulare și a numărului de celule. Utilizând tulpinile de *E. coli* și *Comamonas denitrificans* pentru inhibarea amoxicilinei ca sisteme model, s-a constatat că jumătate din concentrația maximă inhibitoare (IC50) determinată prin ambele metode este într-un bun acord. Este important de subliniat că ratele de creștere împreună cu dinamica morfologică a celulelor separate a dus la descoperirea unei noi forme de rezistență la amoxicilina – „persistență oportunistă” [25].

E. coli are o capacitate excelentă de a acumula gene de rezistență, în mare parte prin transfer orizontal de gene. Mecanismele corespund achiziționării de gene care codifică β -lactamazele cu spectru extins (conferind rezistență la cefalosporine cu spectru larg), carbapenemaze (rezistență la carbapenemele), metilaze ARN 16S (conferind rezistență la aminoglicozide), gene de rezistență la chinolone mediate de plasmide (PMQR, care conferă rezistență la [fluoro] chinolone) și gene MCR (conferă rezistență la polimixine). Investigațiile genomice indică faptul că producătorii de β -lactamază cu spectru extins întâlnite la animale sunt distincte de cele care afectează oamenii [12].

De asemenea, au fost efectuate analize prin testul WGS on Illumina MiSeq și testul de microdiluție în bulion pe 90 de izolate din fluxul sanguin din cele mai comune 4 bacterii gram-negative la pacienții

neutropenici. Datele testului WGS, incluzând atât prezența/absența genelor, cât și detectarea mutațiilor într-o serie de gene relevante pentru rezistența antimicrobiană, au fost folosite pentru a prezice rezistența la 4 β -lactame utilizate frecvent în tratamentul empiric al febrei neutropenice. Din 133 de cazuri probabile de rezistență la β -lactame, doar 87 (65%) au fost detectate prin metoda PCR. Sensibilitatea, specificitatea și valorile predictive pozitive și negative pentru WGS în precizarea rezistenței la antimicrobiene au fost 0,87%, 0,98%, 0,97% și, respectiv, 0,91 % [26].

A fost identificat SatA (acetiltransferaza A pentru streptomycină, anterior denumită YyaR), enzimă prezentă la *Bacillus subtilis* ca mecanism folosit de acest microorganism pentru neutralizarea streptomicinei. Datele prezentate evidențiază relevanța fiziologică a acetilării lizinei pentru supraviețuirea *B. subtilis* în sol [27].

Preparate antimicrobiene cu acțiune nouă. De la descoperirea lor, antibioticele β -lactam au constituit o componentă majoră a instrumentarului împotriva agenților patogeni severi. În ultimii 30 de ani, au fost elaborați inhibitori de β -lactamază, care restabilesc eficacitatea antibioticelor β -lactamice [28].

Permanent sunt elaborate preparate noi, cum ar fi două seturi diferite de conjugați indol-tiazolidinonă. Petamcina-A are o activitate antimicrobiană sporită împotriva tuturor tulpinilor de bacterii, drojdii și mușegaiuri testate. De asemenea, preparatul a prezentat o activitate antifagă sporită [29].

Dezvoltarea unor terapii antimicrobiene eficiente a fost împiedicată de apariția tulpinilor bacteriene cu rezistență multi-drog și capacități de formare a biofilmului. A fost realizată o sinteză a nanoparticulei de argint (AgNP) acoperită cu un biopolimer pe bază de polisacharide semisintetice (polisacharida de carboximetil tamarind). Aceste nanoparticule au o dimensiune medie de ~20-40 nm și sunt stabile în timp. Nanoparticulele de argint inhibă creșterea și formarea biofilmului atât la tulpinile bacteriene Gram-pozitive (*B. subtilis*), cât și la cele Gram-negative (*E. coli* și *Salmonella typhimurium*); chiar și la concentrații mult mai mici decât concentrațiile minime de inhibitori ai antibioticelor, prezintă puncte reduse sau lipsă de citotoxicitate împotriva celulelor-gazdă [30].

Au fost descoperite și studiate mai multe conjugate naturale siderofore antibiotice (sideromicine). Studii microbiologice și biochimice au fost utilizate pentru a genera analoguri de sideromicină semisintetică și total sintetică. Rezultatele demonstrează că sideroforii și analogurile pot fi folosite pentru furnizarea de medicamente

mediate de transportul fierului și dezvoltarea de noi agenți pentru a bloca asimilarea fierului [31].

A fost demonstrată rezistența diferită a bacteriilor Gram-negative față de un șir de uleiuri vegetale. A fost descris modul în care secvențierea ADN-ului și tehnicile bioinformatiche revoluționează descoperirea produsului natural care duce la obținerea de noi antibiotice de origine naturală. Noi compuși chimici de la chimiști din întreaga lume și antibiotice „uite” repositionate pentru studii clinice după modificarea produsului natural original sunt elaborate în ultimii ani [5, 15, 32, 33].

Patru hidrogeluri noi bazate pe chitosan au fost sintetizate printr-o reacție încrucișată a chitosanului cu concentrații diferite de bis 4-(2,5-dioxo-2H-pirol-1(5H)-il) benzamidă. Structurile lor au fost confirmate prin raze X, spectrele FTIR, microscopie electronică de scanare și difracție de raze X. Astfel, a fost studiată activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor asupra cinci specii de bacterii. Hidrogelurile au prezentat activități antimicrobiene înalte și au fost mai active asupra bacteriilor Gram-pozitive decât bacteriile Gram-negative [34].

Ceftolozane-tazobactam este o nouă combinație de inhibitori beta-lactam + beta-lactamază-inhibitori, rezistenți la beta-lactamază cu spectru extins, care prezintă o activitate excelentă anti-*Pseudomonas*. De asemenea, preparatul este eficient împotriva tulpinilor atunci când rezistența la beta-lactam este legată de pierderea porinei sau de activitatea pompei de eflux. În spectrul de acțiune a ceftazidime-avibactam sunt incluse și speciile producătoare de carbapenemază din genul *Enterobacteriaceae* [23].

Problema elaborării preparatelor antibacteriene noi este una universală. În sectorul veterinar, de asemenea, se impune necesitatea dezvoltării a noi antimicrobiene și implementarea strategiilor privind reducerea utilizării antibioticelor și lichidarea provocărilor rezistenței la antimicrobiene. Analiza expresiei genetice în unele studii furnizează noi instrumente care permit descoperirea peptidelor antimicrobiene derivate de gazdă [35].

La fel, a fost testată activitatea antimicrobiană a extractelor din trunchiul arborelui de eucalipt. Acțiunea unuia dintre cei mai activi compuși, 3,4', 5,7-tetrahidroxiflavanonă, a fost cercetată pe *P. aeruginosa* și s-a dovedit a avea efect bacteriostatic la o concentrație de 200 g/ml. Acest preparat a redus aderența celulelor microbiene, fără efecte citotoxice asupra celulelor Vero [36].

Prin metoda Scanner Electron Microscopy (SEM) și Microscopie de Forță Atomică (AFM), s-a observat că nanoparticulele de chitosan încărcate cu cefazolină (CSNPs) au o dimensiune mai mică de 100 nm și sunt identice atât ca formă, cât și ca dimensi-

une. Încapsularea cefazolinei în nanoparticulele de chitosan nu a mărit dimensiunea lor. Rezultatele au arătat că ambele metode au potențial zeta pozitiv, contribuind astfel la stabilirea unei formule unice. Eficiența încapsulării cefazolinei s-a dovedit a fi direct proporțională cu creșterea concentrației de antibiotice (28-62%) [8].

Oleuri esențiale sunt un amestec complex de compuși organici volatili, odoriferi. Numeroase articole evidențiază acțiunea antimicrobiană cu spectru larg a unei varietăți de uleiuri esențiale. Ele destabilizează în primul rând arhitectura celulară a agenților patogeni, ducând la descompunerea integrității membranei, perturbând multe procese celulare, inclusiv producția de energie și transportul transmembranar al membranei [37].

Peptidele antimicrobiene (PAM), molecule peptidice scurte, ajută organismele unicelulare să concureze cu succes pentru nutrienți și fac parte din sistemul imunitar al ființelor multicelulare. Toate PAM-urile au caracteristici comune, cum ar fi o dimensiune mică, cu secvențe cationice și hidrofobe într-o structură liniară sau ciclică. PAM-urile pot inhiba sau omori bacteriile la concentrații micromolare, adesea prin mecanisme nespecifice; prin urmare, apariția rezistenței la aceste antimicrobiene este rară. Mai mult decât atât, PAM-urile au acțiune bactericidă asupra tulpinilor rezistente la antibiotice, inclusiv asupra bacteriilor. În viitorul apropiat, PAM, grație proprietăților lor, ar trebui să reprezinte o alternativă la antibiotice [6, 38].

Peptidele antimicrobiene au fost evaluate ca potențiali agenți terapeutici. Dar optimizarea acestora pentru utilizarea terapeutică va trebui să se concentreze pe factori precum susceptibilitatea lor la degradarea proteolitică și reducerea toxicității pentru celulele mamifere. De asemenea, trebuie stabilite linii directe stricte referitoare la utilizarea acestora pentru a preveni dezvoltarea rezistenței la astfel de peptide [39].

Acinetobacter baumannii, un agent patogen oportun Gram-negativ, este o cauză principală a infecțiilor intraspitalicești și comunitare. Această specie poate dobândi rapid diverse mecanisme de rezistență și poate suferi modificări genetice care conferă rezistență și persistență la toate antibioticele utilizate în prezent. Multiple studii au demonstrat că L-lizina exogenă sensibilizează *Acinetobacter baumannii*, precum și alte bacterii Gram-negativ (*Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae*) și o specie Gram-pozitivă (*Mycobacterium smegmatis*) la aminoglicozide. Important este că îmbinarea de L-lizină cu aminoglicozide a prezentat efect bactericid asupra tulpinilor de *Acinetobacter baumannii* multirezistente la antibiotice și persistente. Combinația dintre

L-lizină și preparatele antimicrobiene evidențiază o strategie promițătoare împotriva infecțiilor bacteriene [40].

Cercetările au evidențiat necesitatea unor tratamente eficiente împotriva bacteriilor Gram-negativ rezistente, prin dezactivarea mecanismului de rezistență, cum ar fi acțiunea asupra inhibitorului β -lactamazei. O altă tendință promițătoare a fost dezvoltarea agenților cu activitate antibacteriană asupra noilor ținte, precum bacteriofagii [41].

Structurile chimice ale noilor derivați au fost verificate folosind diferite tehnici spectroscopice. 1,2,3-triazoli au fost evaluați pentru activitatea antibacteriană *in vitro* împotriva *Staphylococcus aureus* și *Pseudomonas aeruginosa*, iar rezultatele obținute au fost comparate cu activitatea antibioticului de referință – ampicilina. De asemenea, activitatea antifungică *in vitro* a noilor 1,2,3-triazoli a fost investigată împotriva *Candida albicans* și *Aspergillus niger* folosind nystatin ca medicament de referință. Unii compuși testați au prezentat o activitate antifungică promițătoare [42].

Afecțiunile intestinului sau intervenția chirurgicală au ca rezultat modificări locale în țesuturi, cu eliberarea unor factori care declanșează virulența bacteriană. Compușii care ar putea atenua producția de collagenază, facilitând în același timp proliferarea bacteriilor comensale, ar oferi avantaje majore fără riscul apariției rezistenței. A fost demonstrat că polifosfatul administrat oral, hexametfosfatul (PPI), suprimă collagenaza. În cele din urmă, s-a observat o acțiune inhibitoare asupra biofilmelor de agenți patogeni testați NP-PPI sau NP-Pi + NP-PPI. Aceste studii sugerează că eliberarea diferitor forme de fosfat conferă organismului protecție împotriva agenților patogeni Gram-pozitivi și Gram-negativi, orientând astfel asupra unui tratament eficient, fără a afecta flora normală pe durata tratamentului [43].

Concluzii

Rezistența bacteriană rămâne o amenințare globală și o cauză principală de deces la nivel mondial, în pofida încercărilor masive de a controla infecțiile. Bacteriile rezistente proliferază prin selecție naturală atunci când cele sensibile la antimicrobiene sunt îndepărtate de antibiotice. În final, aceasta subliniază rolul important al clinicienilor în limitarea dezvoltării și răspândirii rezistenței antimicrobiene. Astfel, este necesar un efort concertat și sistematic pentru a identifica rapid problemele și a elabora soluții adecvate [2, 16].

Microorganismele rezistente la antimicrobiene se pot răspândi în instituțiile spitalicești și în afara lor, ceea ce necesită o atenție sporită la aplicarea măsurilor de control al infecțiilor și medicament-

elor care conțin β -lactame, în efortul de a controla selecția de agenți patogeni rezistenți [13].

Numeroase studii au identificat mai multe strategii pentru combaterea și controlul bacteriilor Gram-negative rezistente, cum ar fi dezvoltarea agenților antimicrobieni noi și eficace, modificarea structurală a antibioticelor existente, cercetarea și studiul structurilor chimice cu noi mecanisme de acțiune [41].

Pe lângă terapia nouă, este extrem de important un sistem eficient de control al infecțiilor, împreună cu utilizarea prudentă a antimicrobienei [23].

În implementarea oricărei tehnologii inedite în scopuri de reglementare, trebuie luate în calcul aspecte importante, precum armonizarea, validarea și asigurarea calității. Regulile de monitorizare a circulației microorganismelor rezistente la antimicrobiene în sectorul uman, veterinar, alimentar și mediu trebuie să fie aliniată la principiile abordării „O singură sănătate” [18]. Studiile care descriu epidemiologia microorganismelor rezistente la antimicrobiene sunt vitale pentru dezvoltarea preparatelor antimicrobiene eficiente.

Bibliografie

- Hua M., Guo J., Li M. et al. A Dual-Replicon Shuttle Vector System for Heterologous Gene Expression in a Broad Range of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria. In: *Curr. Microbiol.* 2018 Oct; 75(10): 1391-1400.
- Subramaniam G., Girish M. Antibiotic Resistance - A Cause for Reemergence of Infections. In: *Indian J. Pediatr.* 2020 Feb 5.
- Marylise Duperthuy. Antimicrobial Peptides: Virulence and Resistance Modulation in Gram-Negative Bacteria. In: *Microorganisms.* 2020 Feb; 8(2): 280.
- Buitinck S., Jansen R., Rijkbergen S. The ecological effects of selective decontamination of the digestive tract (SDD) on antimicrobial resistance: a 21-year longitudinal single-centre study. In: *Crit. Care.* 2019 Jun 7; 23(1): 208.
- Butler M.S., Blaskovich M.A., Owen J.G. et al. Old dogs and new tricks in antimicrobial discovery. In: *Curr. Opin. Microbiol.* 2016 Oct; 33: 25-34.
- Gasu E.N., Ahor H.S., Borquaye L.S. Peptide Extract from *Olivancillaria hiatula* Exhibits Broad-Spectrum Antibacterial Activity. In: *Biomed Res. Int.* 2018 Dec 23; 2018: 6010572.
- Wei H.Y., Tan B.Y., Yang L.J. et al. Antibiotic resistance of gram-negative *Bacillus* isolated from children with bronchopneumonia. In: *Zhongguo dang dai er ke za zhi.* 2011 Jan; 13(1): 20-2.
- Jamil B., Habib H., Abbasi S. et al. Cefazolin loaded chitosan nanoparticles to cure multi drug resistant Gram-negative pathogens. In: *Carbohydr. Polym.* 2016 Jan 20; 136: 682-91.
- Gunzer F., Rudolph W.W., Bunk B. et al. Whole-genome sequencing of a large collection of *Myroides odoratimimus* and *Myroides odoratus* isolates and antimicrobial susceptibility studies. In: *Emerg. Microbes Infect.* 2018 Apr 4; 7(1): 61.
- Koiava T., Gonçalves D., Palmeira J. et al. Detection of CTX-M gene antibiotics resistance in *Clebsiella pneumoniae* isolates of hospitals in Adjara (Georgia). In: *Georgian Med. News.* 2016 Sep; (258): 50-54.
- Lee J.H., Takahashi M., Jeon J.H. et al. Dual activity of PNGM-1 pinpoints the evolutionary origin of subclass B3 metallo- β -lactamases: a molecular and evolutionary study. In: *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8(1): 1688-1700.
- Poirel L., Madec J.Y., Lupo A. et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. In: *Microbiol. Spectr.* 2018 Jul; 6(4).
- Bush K., Bradford P.A. Epidemiology of β -Lactamase-Producing Pathogens. In: *Microbiol. Rev.* 2020 Feb 26; 33(2). pii: e00047-19.
- Kim Y.H. Conditional probability analysis of multidrug resistance in Gram-negative bacilli isolated from tertiary medical institutions in South Korea during 1999-2009. In: *J. Microbiol.* 2016 Jan; 54(1): 50-56.
- Arsalan A., Naqvi S.B., Sabah A. et al. Resistance pattern of clinical isolates involved in surgical site infections. In: *Pak. J. Pharm. Sci.* 2014 Jan; 27(1): 97-102.
- Al Wutayd O., Al Nafeesah A., Adam I. The antibiotic susceptibility patterns of uropathogens isolated in Qassim, Saudi Arabia. In: *J. Infect. Dev. Ctries.* 2018 Nov 30; 12(11): 946-952.
- Masseron A., Poirel L., Jamil Ali B. et al. Molecular characterization of multidrug-resistance in Gram-negative bacteria from the Peshawar teaching hospital, Pakistan. In: *New Microbes New Infect.* 2019 Oct 11; 32: 100605.
- Angers-Loustau A., Petrillo M., Bengtsson-Palme J. et al. The challenges of designing a benchmark strategy for bioinformatics pipelines in the identification of antimicrobial resistance determinants using next generation sequencing technologies. In: *Comm J-459.* doi: 10.12688/f1000research.14509.2. eCollection 2018.
- Wang J.C., Chi S.W., Yang T.H. et al. Label-Free Monitoring of Microorganisms and Their Responses to Antibiotics Based on Self-Powered. Microbead Sensors. In: *ACS Sens.* 2018, 3, 10, 2182-2190. doi.org/10.1021/acssensors.8b00790
- Liang T., Leung L.M., Opene B. et al. Rapid Microbial Identification and Antibiotic Resistance Detection by Mass Spectrometric Analysis of Membrane Lipids. In: *Anal. Chem.* 2019 Jan 15; 91(2): 1286-1294.
- Rao R. P., Sharma S., Mehrotra T. et al. Rapid Electrochemical Monitoring of Bacterial Respiration for Gram-Positive and Gram-Negative Microbes: Potential Application in Antimicrobial Susceptibility Testing. In: *Anal. Chem.* 2020 Mar 17; 92(6): 4266-4274.
- Cansizoglu M.F., Tamer Y.T., Farid M. et al. Rapid ultrasensitive detection platform for antimicrobial susceptibility testing. In: *PLoS Biol.* 2019 May 30; 17(5): e3000291.
- Sinkó J. Clinical aspects of severe infections caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacteria. The Empire strikes back? In: *Orv. Hetil.* 2017 Oct; 158(39): 1528-1534.
- Wyres K.L., Holt K.E. *Clebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. In: *Curr. Opin. Microbiol.* 2018 Oct; 45: 131-139.

25. Li B., Qiu Y., Glidle A. et al. Single cell growth rate and morphological dynamics revealing an „opportunistic“ persistence. In: *Analyst*. 2014 Jul 7; 139(13): 3305-13.
26. Shelburne S.A., Kim J., Munita J.M. et al. Whole-Genome Sequencing Accurately Identifies Resistance to Extended-Spectrum β -Lactams for Major Gram-Negative Bacterial Pathogens. In: *Clin. Infect. Dis.* 2017 Sep 1; 65(5): 738-745.
27. Burckhardt R.M., Escalante-Semerena J.C. In *Bacillus subtilis*, the SatA (Formerly YyaR) Acetyltransferase Detoxifies Streptothricin via Lysine Acetylation. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 2017 Oct 17; 83(21). pii: e01590-17.
28. Watkins R.R., Papp-Wallace K.M., Drawz S.M. et al. Novel β -lactamase inhibitors: a therapeutic hope against the scourge of multidrug resistance. In: *Front. Microbiol.* 2013 Dec 24; 4: 392.
29. Ginovyan M., Keryan A., Bazukyan I. et al. The large scale antibacterial, antifungal and anti-phage efficiency of Petamcin-A: new multicomponent preparation for skin diseases treatment. In: *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015 May 18; 14: 28.
30. Sanyasi S., Majhi R.K., Kumar S. et al. Polysaccharide-capped silver Nanoparticles inhibit biofilm formation and eliminate multi-drug-resistant bacteria by disrupting bacterial cytoskeleton with reduced cytotoxicity towards mammalian cells. In: *Sci. Rep.* 2016 Apr 29; 6: 24929.
31. Lin Y.M., Ghosh M., Miller P.A. et al. Synthetic sideromycins (skepticism and optimism): selective generation of either broad or narrow spectrum Gram-negative antibiotics. In: *Biometals*. 2019 Jun; 32(3): 425-451.
32. Ahmed R.N., Daniel F., Gbala I.D., Sanni A. Potentials of Actinomycetes from Reserved Environments as Antibacterial Agents Against Drug-Resistant Clinical Bacterial Strains. In: *Ethiop. J. Health Sci.* 2020 Mar; 30 (2): 251-258.
33. Bakht J., Iftikhar Z., Shafi M. et al. Report - Screening of medicinally important *Berberis lyceum* for their antimicrobial activity by disc diffusion assay. In: *Pak. J. Pharm. Sci.* 2017 Sep; 30 (5): 1783-1789.
34. Mohamed N.A., Fahmy M.M. Synthesis and antimicrobial activity of some novel cross-linked chitosan hydrogels. In: *J. Mol. Sci.* 2012; 13(9): 11194-209.
35. Kim W.H., Lillehoj H.S., Gay C.G. Using genomics to identify novel antimicrobials. In: *Sci. Tech.* 2016 Apr; 35(1): 95-103.
36. Nobakht M., Trueman S.J., Wallace H.M. et al. Antibacterial Properties of Flavonoids from Kino of the Eucalypt Tree, *Corymbia torelliana*. In: *Plants Basel*. 2017 Sep 14; 6(3). pii: E39.
37. Saika Tariq, Saira Wani, Waseem Rasool et al. Comprehensive Review of the Antibacterial, Antifungal and Antiviral Potential of Essential Oils and Their Chemical Constituents Against Drug-Resistant Microbial Pathogens. In: *PMID: 31195112*. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103580.
38. Ageitos J.M., Sánchez-Pérez A., Calo-Mata P. et al. Antimicrobial peptides (AMPs): Ancient compounds that represent novel weapons in the fight against bacteria. In: *Biochem Pharmacol.* 2017 Jun 1; 133: 117-138.
39. Baltzer S.A., Brown M.H. Antimicrobial peptides: promising alternatives to conventional antibiotics. In: *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2011; 20(4): 228-35.
40. Deng W., Fu T., Zhang Z. et al. L-lysine potentiates aminoglycosides against *Acinetobacter baumannii* via regulation of proton motive force and antibiotics uptake. In: *Emerg. Microbes Infect.* 2020 Mar 20; 9(1): 639-650.
41. Breijyeh Z., Jubeh B., Karaman R. Resistance of Gram-Negative Bacteria to Current Antibacterial Agents and Approaches to Resolve In: *It. Molecules*. 2020 Mar 16; 25(6). pii: E1340.
42. El Malah T., Nour H.F., Satti A.E. et al. Design, Synthesis, and Antimicrobial Activities of 1,2,3-Triazole Glycoside Clickamers. In: *Molecules*. 2020 Feb 12; 25(4). pii: E790.
43. Nichols D., Pimentel M.B., Borges F.T.P. et al. Sustained Release of Phosphates From Hydrogel Nanoparticles Suppresses Bacterial Collagenase and Biofilm Formation *in vitro*. In: *Front Bioeng Biotechnol.* 2019 Jun 26; 7: 153.

Victoria Bucov, dr. hab. șt. med., prof. cerc.,
 Șef laborator științific
 Supravegherea rezistenței antimicrobiene,
 Agenția Națională pentru Sănătatea Publică
 tel.: 022574587; 079261188;
 e-mail: v.e.bucova@gmail.com