



Prin identificarea fiecărui ion molecular, care corespunde maselor molare, s-a demonstrat structura chimică a *Benzituronului* și *Metiferonului*

Concluzii

Reconfirmarea structurii chimice și a maselor moleculare ale *Benzituronului* și *Metiferonului* s-a realizat în baza spectrelor de masă care conțin informații ample analitice despre construirea scheletului molecular al acestor substanțe.

Bibliografie

1. Beckett A.H., Stenlake J.B. *Practical Pharmaceutical Chemistry*. London: Athlone, 1988. 320 p.
2. Benninghoven, A.; Rudenauer, F.G.; Werner, H. *Secondary ion mass spectrometry: basic concepts, instrumental aspects, applications and trends*. John Wiley and Sons, New York, NY, 1978, 1262 p.
3. Tihon Iu. Spectroscopia de masă a *Benzituronului* și *Metiferonului*. În: Buletinul academiei de științe a Moldovei, 2010, nr. 1(24), p.123-126.

STUDIUL DINAMICII REZISTENȚEI BACTERIENE LA AZITROMICINĂ

Mihail Anton¹, Livia Uncu¹, Olga Burduniuc², Vladimir Valica¹,
Olga Suvorchina³, Iurie Tihon¹

¹Catedra Chimie Farmaceutică și Toxicologică; ²Centrul Național Științifico-practic de Medicină Preventivă; ³Laboratorul Analiză, standardizare și controlul medicamentelor a CȘDM

Summary

Study of the dynamics of bacterial resistance to azithromycin

The antimicrobial resistance is a negative phenomenon that continuously reduces the spectrum of action and the arsenal of antibacterial preparations used in therapy. According to WHO forecasts, some infections successfully treated today, soon could become mortal again. In this context, WHO has adopted a series of measures to prevent and control the antimicrobial resistance, including the European Antimicrobial Resistance Surveillance System.

This paper represents a pharmacological monitoring study of the antimicrobial resistance that, in parallel with the EARSS, provides a full image of the development of bacterial resistance to Azithromycin, updates the spectrum of action of this antibiotic, and detects trends and future development of the antimicrobial resistance to Azithromycin and its use in therapeutics.

Rezumat

Antibioticorezistența este un fenomen nefast care reduce în continuu spectrul de acțiune și arsenalul preparatelor antibacteriene utilizate în terapie. Conform prognozelor OMS, în curând ar putea deveni din nou mortale unele infecții tratate cu succes în prezent. În acest context OMS a adoptat o serie de măsuri de prevenire și combatere a rezistenței antimicrobiene, printre care și Sistemul European de Supraveghere a Rezistenței Antimicrobiene.

Lucrarea dată prezintă un studiu de monitoring farmacologic al antibioticorezistenței, care, în paralel cu sistemul EARSS, oferă un tablou integral al dezvoltării rezistenței bacteriene la Azitromicină, actualizează spectrul de acțiune al acestui antibiotic, precum și depistează tendințele de dezvoltare a antibioticorezistenței și perspectivele de utilizare a Azitromicinei în practica terapeutică.

Introducere

Cînd în anii '40 ai secolului XX au apărut primele antibiotice, acestea au fost supranumite pe dreptate „medicamente miraculoase” și „minunea medicinei contemporane”. Preparatele antibacteriene au făcut posibil tratamentul unor infecții ca sifilisul, gonoreea, lepra, tuberculoza etc., infecții care anual luau milioane de vieți omenești. Impactul acestor preparate a fost revoluționar, a dat un imbold foarte puternic pentru descoperirea noilor preparate antimicrobiene, a crescut simțitor nivelul de trai, fapt elucidat prin sporirea esențială a speranței de viață. Actualmente, din cauza dezvoltării progresive a rezistenței antimicrobiene, omenirea este pe cale de a pierde aceste „medicamente miraculoase”.

Rezistența bacteriană la antibiotice (sau rezistența antimicrobiană, sau antibioticorezistența), este un tip de rezistență medicamentoasă, în cadrul căreia un microorganism devine capabil de a supraviețui fiind expus la un antibiotic față de care era sensibil anterior [4]. Patogenii rezistenți apar și se răspîndesc din ce în ce mai vertiginos, tot mai multe preparate antibacteriene esențiale își pierd din activitate, iar arsenalul acestor remedii terapeutice este redus în continuu. Un antibiotic devine ineficient mult mai repede decît este înlocuit cu altul, în plus, cercetările și elaborarea noilor preparate antimicrobiene actualmente practic s-a stopat [3].

În cazul lipsei măsurilor corective și protective urgente, asupra omenirii se va abate era post-antibiotică, în care multe infecții răspîndite nu se vor mai supune tratamentului și din nou vor lua mulțimi de vieți omenești [5]. În afară de renașterea infecțiilor mortale, în categoria de risc vor nimeri multe practici medicale de salvare și prelungire a vieții, cum ar fi terapia cancerului, operațiile chirurgicale complicate și transplantul de organe. Astăzi, cînd spitalele au devenit focare de infecție cu patogeni multirezistenți, aceste practici devin extrem de periculoase.

Una din măsurile de protecție și profilaxie a dezvoltării antibioticorezistenței, adoptate de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) este supravegherea epidimiologică continuă, efectuată prin intermediul a 2 programe: EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) – Sistemul European de Supraveghere a Rezistenței Antimicrobiene și ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption) – Programul European de Supraveghere a Consumului de Preparare Antimicrobiene [4].

Scopul

Azitromicina este primul reprezentant al azalidelor, unui grup al antibioticelor macrolide, antibiotice cu spectrul larg de acțiune [1]. Azitromicina este activă față de bacterii gram-pozitive: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*; bacterii gram-negative: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Legionella pneumophila*, *Campilobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis*; unele microorganisme anaerobe: *Clostridium perfringens*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdoferi* [2].

În prezentul studiu ne-am propus a determina variațiile rezistenței bacteriene la Azitromicină pentru anii 2009-2010 pentru a actualiza spectrul de acțiune al acestui antibiotic și pentru a depista tendințele de dezvoltare a antibioticorezistenței, precum și a perspectivelor de utilizare a Azitromicinei în practica terapeutică.

Materiale și metode

Cercetările au fost efectuate în cadrul Centrului Național de Sănătate Publică, Laboratorul Centrului Epidemiologia bolilor extrem de periculoase și combaterea bioterorismului, secția Boli respiratorii.

În calitate de obiect de studiu au fost selectate tulpinile de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus gr. G*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Haemophilus influenzae*.

În calitate de metodă de studiu a rezistenței bacteriene la Azitromicină a fost selectată metoda difuzimetrică (testul Kirby-Bauer), deoarece aceasta este tehnologic simplă și oferă rezultate demonstrative.

Materiale pentru efectuarea metodei difuzimetrică: medii nutritive: geloză Mueller-Hinton (GMH), AGV; trusă cu discuri antimicrobiene de Azitromicină; soluție sterilă NaCl 0,9%; tampoane standarde din vată sterilă; etalonul nr. 0,5 pe scara McFarland cu suflat de bariu.

Etapele efectuării metodei difuzimetrică:

1. *Pregătirea plăcilor nutritive* – Mediile nutritive s-au preparat conform instrucțiunilor standard, s-a determinat pH-ul (7,2-7,4) la potențiomtru și s-au autoclavat. După autoclavare, mediul a fost răcit pînă la 45-50° și a fost turnat în cutii amplasate pe o suprafață orizontală, astfel încît grosimea mediului să constituie $4,0 \pm 0,5$ mm, ceea ce corespunde la 25 ml mediu pentru cutiile cu diametru 100 mm. Plăcile proaspăt pregătite au fost uscate în poziție orizontală timp de 10-20 minute la 35-37°C cu capacele întredeschise. Cutiile s-au păstrat la temperatura 4-8°C în ambalaj din plastic închis ermetic timp de o săptămînă.
2. *Pregătirea suspensiei microbiene și inocularea* – Suspensia de microorganisme a fost pregătită din cultura de 16-18 ore crescută pe geloză, în soluție 0,9% NaCl pînă la turbiditatea corespunzătoare etalonului 0,5 pe scara McFarland. Din momentul etalonării culturii, plăcile au fost însămînțate în 15 minute. Însămînțarea plăcilor s-a efectuat cu ajutorul tampoanelor din vată sterile. S-a imersat tamponul de vată în inoculum etalonat, s-a scurs excesul de lichid prin rotirea tamponului pe peretele tubului. S-a descărcat tamponul în striuri paralele, peste toată suprafața mediului, succesiv în 3 direcții prin întoarcerea plăcii cu cîte 60°. În final, s-a parcurs cu vârful tamponului toată circumferința mediului la limita cu sticla. S-a lasat placa însemnăntată timp de cîteva minute (nu mai mult de 15), pentru absorbția inoculului.
3. *Aplicarea discurilor și termostatarea* – Ambalajele cu discuri antimicrobiene, păstrate în frigider au fost menținute închise etanș 1-2 ore la temperatura camerei pentru echilibrarea termică. Discurile cu antibiotice s-au aplicat la 15 min. după însămînțare, cu ajutorul unei pense sterile sau dispenserului automat. Distanța dintre discuri, precum și dintre disc și marginea plăcii s-a lăsat de 15-20 mm. Astfel pe suprafața unei cutii cu diametrul de 100 mm s-au aplicat nu mai mult de 6 discuri. Fiecare disc s-a presat pe suprafața mediului pentru a asigura contactul discului cu placa. S-au incubează imediat plăcile la 35-37°C pentru 18-20 ore.
4. *Interpretarea rezultatelor* – Pentru determinarea diametrului zonei de inhibiție completă a creșterii, cutiile au fost aranjate pe o suprafață întunecată astfel ca lumina lămpii de masă să cadă sub un unghi de 45°. Diametrul zonei de inhibiție completă a creșterii s-a măsurat cu precizie pînă la 1 mm cu ajutorul unei rigle gradate transparente sau cu șublerul.

Variația rezistenței a fost determinată conform formulei:

$$\Delta = \alpha_2 - \alpha_1,$$

unde:

α_1 – cota parte a tulpinelor rezistente din numărul total al tulpinelor microorganismului dat în anul 2009 (în %);

α_2 – cota parte a tulpinelor rezistente din numărul total al tulpinelor microorganismului dat în anul 2010 (în %);

Rezultate și discuții

Rezultatele cercetărilor sunt prezentate în *tab. 1* și *fig. 1*. Din tabel se observă, că în anul 2010 a crescut cota parte a tulpinilor rezistente la Azitromicină practic pentru toate speciile de bacterii cercetate ($\Delta > 0$ pentru *Str. pneumoniae*, *Str. salivarius*, *Str. pyogenes*, *Str. gr. G*, *S. epidermidis*, *H. influenzae*). Dintre acestea, o creștere mai semnificativă a antibioticorezistenței au demonstrat-o stafilococul epidermal ($\Delta = +15,15\%$), streptococii β -hemolitici din grupul G (+12,67%) și *Str. salivarius* (+27,28%). Patogenii implicați mai des în geneza bolilor respiratorii, cum ar fi pneumococul, streptococul piogen și *H. Influenzae* au demonstrat o creștere modestă a

antibioticorezistenței la Azitromicină pe parcursul perioadei de studiu ($\Delta = +2,33\%$, $+4,51\%$ și $+2,78\%$, respectiv), ceea ce argumentează posibilitatea utilizării cu succes în continuare al antibioticului dat în tratamentul infecțiilor provocate de speciile bacteriene sus-numite. Totuși, este îngrijorătoare apariția în 2010 a unei tulpini de *H. Influenzae* rezistențe la Azitromicină, luând în considerație faptul că în 2009 tulpini rezistente al acestui patogen nu au fost depistate.

O diminuare nesemnificativă a rezistenței antimicrobiene a demonstrat doar *S. aureus* ($\Delta = -1,28\%$), demonstrând totodată și o creștere cu 7% a ponderii tulpinilor sensibile, fapt îmbucurător, luând în considerație problemele majore pe care le crează acest microorganism în practica terapeutică mondială. Rezultatele obținute încurajează tratamentul cu Azitromicină a infecțiilor stafilococice provocate de *S. aureus*.

Prezentul studiu este diferit de studiile din domeniul antibioticorezistenței prin faptul că cercetează nu spectrul de sensibilitate/rezistență a unui microorganism la o serie de antibiotice (avînd ca scop supravegherea epidemiologică a apariției și răspândirii tulpinilor noi, ceea ce reprezintă esența sistemului EARSS), ci spectrul de sensibilitate/rezistență a unui antibiotic la o serie de microorganisme care fac parte din spectrul său de acțiune inițial. Un astfel de studiu oferă informații prețioase pentru domeniul farmacologic și farmacoterapeutic, deoarece vizează modificările în spectrele de acțiune a diferitor antibiotice, deci și modificări în indicația, prescripția și consumul de antibiotice în practica terapeutică.

Dacă studiile din cadrul sistemului EARSS prevăd în sine studii de monitoring epidemiologic al antibioticorezistenței, studiul propus de noi prevede în sine un „monitoring farmacologic al antibioticorezistenței”, deoarece obiectul de studiu este nu microorganismul, ci preparatul medicamentos, antibioticul, și modificările survenite în spectrul său de acțiune.

Concluzii

Pe parcursul efectuării studiului dat, au fost formulate următoarele concluzii:

- Practic la toate microorganismele cercetate a crescut, într-o măsură sau alta, antibioticorezistența la Azitromicină;
- O creștere mai semnificativă a antibioticorezistenței au demonstrat-o *S. epidermidis*, *Str. gr. G* și *Str. salivarius*;
- O creștere modestă a antibioticorezistenței la Azitromicină au demonstrat-o *Str. pneumoniae*, *Str. pyogenes*, și *H. Influenzae*;
- O diminuare nesemnificativă a rezistenței antimicrobiene a demonstrat doar *S. aureus*;
- Propunem efectuarea studiilor de monitoring farmacologic al antibioticorezistenței în paralel cu cele de monitoring epidemiologic al antibioticorezistenței pentru căpătarea unui tablou integral al dezvoltării rezistenței bacteriene la antibiotice.

Bibliografie

1. Livia Uncu, Mihail Anton, Olga Suvorchina, Elena Bobrov, Liviu Movilă, Artiom Osipov, „Elaborarea tehnicii spectrofotometrice UV-VIS de dozare a Azitromicinei”, Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu” ediția XI-a, vol. 1, pag. 427 – 432, Chișinău 2010;
2. Mihail Anton, „Security Azithromycin researchment through its efficiency and its quality control”, Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених ХИСТ, вип. 13, pag. 248, Чернівці 2011;
3. The Journal of Antibiotics 63, 423-430 (August 2010) | doi:10.1038/ja.2010.62;
4. WHO Fact sheet N°194, February 2011;
5. World Health Day 2011, message by Dr Margaret Chan, Director-General of World Health Organisation.