

Lekooporność bakterii będzie narastać*

Artykuł dyskusyjny

Krzysztof L. Krzystyniak

Université du Québec à Montréal, Canada



Słowa kluczowe: infekcje wewnątrzszpitalne (HCAI); gronkowiec złocisty oporny na metycylinę (MRSA); oporność wielolekowa (MDR); rozszerzona lekooporność (XDR); β -laktamazy o rozszerzonym spektrum (ESBL); wysoka oporność przeciw aminoglikozydom (HLAR); enterokoki oporne na wankomycynę (VRE); horyzontalny transfer genów oporności (HGT).

Streszczenie

Wzrastający poziom infekcji szpitalnych, powodowanych w dużej mierze przez drobnoustroje antybiotykooporne jest problemem światowym. Lekooporne bakterie, których powszechną obecność stwierdza się w środowisku wodnym, ściekach, osadach, glebie, generowane są przez nadużywanie antybiotykoterapii. W horyzontalnym transferze oporności różne gatunki bakterii uzyskują materiał genetyczny. Wobec zmniejszających się opcji terapeutycznych nowe strategie walki z bakteriami obejmują: wytwarzanie nowych, bardziej skutecznych szczepionek, monoklonaalne przeciwciała terapeutyczne, lityczne enzymy fagów, profilaktykę probiotykową.

Key words: Healthcare-associated infections (HCAI); Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA); Multidrug resistance (MDR); Extended drug resistance (XDR); Extended spectrum β -lactamases (ESBL); High-level aminoglycoside resistance (HLAR); Vancomycin-resistant enterococci (VRE); Horizontal resistance gene transfer (HGT).

Abstract

Increased numbers of healthcare-acquired infections, including those caused by antibiotic-resistant microbes is a global problem. Resistance is common where antibiotics are heavily used, and additionally antibiotic resistant bacteria are present in wastewater, surface water, ground water, sediments and soils, and increasingly in aquatic environments. Genetic material is transferred between different bacterial species through a horizontal resistance transfer. With therapeutic options becoming more and more limited, new antibacterial strategies include more efficient vaccines, therapeutic monoclonal antibodies, phage lytic enzymes, probiotic prophylaxis.

Epidemiologia lekooporności

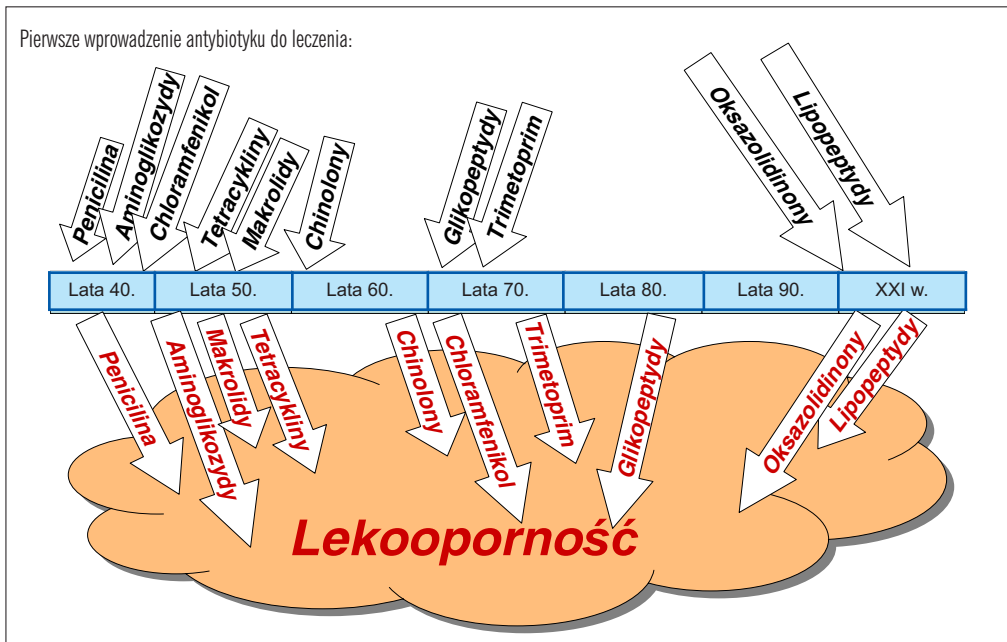
Aktualnym problemem zdrowotnym są częste infekcje bakteryjne, wobec których stosowanie klasycznej antybiotykoterapii nie daje efektów. Do infekcji wzbudzających strach społeczeństwa i lekarzy należą np. meningokoki afrykańskiego szczepu ST11/ET37 powodującego posocznicę, zawleczoną w 2004 r. do Cambridge w Anglii (śmiertelność – 2 zgony na 10 zakażonych); częste u młodych ludzi, dzieci, żołnierzy, bywalców dyskotek.

W Polsce u pacjentów z posocznicą na oddziałach intensywnej terapii gronkowce stanowią ok. 60% zakażeń, w tym 60% jest opornych na metycylinę.

Podobnie wzbudającym strach szczepem (znanym od 1961 r.), spośród 16 gatunków gronkowca atakującego człowieka (dawniej wyłącznie wewnątrzszpitalny), jest oporny na metycylinę gronkowiec złocisty MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Ponad 60% zakażeń gronkowcem MRSA (ponad 95% w postaci infekcji skórnych) to infekcje środowiskowe, na które zapadają młodzi ludzie, sportowcy, dzieci.

W Polsce u pacjentów z posocznicą na oddziałach intensywnej

*Współpraca w ramach kanadyjsko-hinduskiego projektu Université du Québec à Montréal – Mar Athanasios College for Advanced Studies Tiruvalla (MACFAST) Kerala, Pushpagiri Hospital, M.G. University, Tiruvalla, Kerala, 689 101 India: „Probiotic prophylaxis in eradication of multidrug resistance in South Asia” (2010)



Ryc. 1. Rozwój zjawiska lekooporności

terapii gronkowce stanowią ok. 60% zakażeń, w tym 60% jest opornych na metycylinę. W krajach Unii Europejskiej szpitalne szczepy pałeczek Gram-ujemnych mogą być w ponad 50% ekstensywnie oporne na wiele leków XDR (*extended drug resistance*). W badaniach wykonanych w latach 2007-2008 w Niemczech, obejmujących 60 szpitali, wykryto wysoką oporność szpitalnych *Enterococcus faecium* CC17 na ciprofloksacynę – rzędu 97% izolowanych bakterii, z których 99% było jednocześnie opornych na ampicylinę.

Lekooporność bakterii jest problemem światowym. To proces biologiczny, w którym okres kilku lat w przemianach bakteryjnych ma wymiar ewolucyjny (ryc. 1). Nie unikniemy dalszego rozwoju lekooporności, a przyczyn należy szukać głównie w powszechności antybiotykoterapii: *The more you use them the more you lose them*.

Narastające zagrożenia

Optymizm „złotego wieku” (1945-1960) antybiotykoterapii minął bezpowrotnie, mimo wprowadzenia

w latach 1970-1990 nowych antybiotyków o szerokim spektrum działania, jak: cefalosporyny, karbapenemy, fluorochinolony. Doprowadziło to do lekooporności typu nadekspresji błonowych transporterów usuwających leki z komórek bakteryjnych. W Europie liczba bakteryjnych patogenów opornych na wiele leków MDR (*multidrug resistant*) nadal wzrasta. W różnych szczepach bakteryjnych opisano np. ponad 300 β -laktamaz, tzn. enzymów rozkładających antybiotyki β -laktamowe.

Gwałtowny rozwój lekooporności bakterii typu ESBL (*extended spectrum β -lactamases*) czy MRSA w subtropikalnych i tropikalnych krajach Azji tłumaczony jest m.in. szeroką, niekontrolowaną dostępnością antybiotyków, nadużywaniem antybiotykoterapii oraz specyficznymi warunkami klimatyczno-demograficznymi.

Wśród rannych repatriantów po tsunami 2004 r. w szpitalach szwedzkich, niemieckich, włoskich, szwajcarskich notowano infekcje Gram-ujemnymi szczepami lekoopornymi ESBL (+) u 70-90% europejskich turystów, którzy wracali z rejonów basenu

Oceanu Indyjskiego. Najczęstszymi bakteriami opornymi na β -laktamy (ESBL) wśród rannych pacjentów po tsunami były *Aeromonas spp.*, *Burkholderia pseudomallei*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas spp.*, *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Vibrio spp.*, a spośród Gram-dodatnich – lekooporny gronkowiec złocisty (MRSA).

W jednym z ośrodków zajmujących się wielokrotnymi złamaniami 90% pacjentów było zakażonych gronkowcem MRSA, *Escherichia coli* produkującymi ESBL, lekoopornymi *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Scedosporium apiospermium*, *Alcaligenes xyloxdans*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Nocardia africanum*, *Mycobacterium chelonae*. Spośród wyizolowanych patogennych szczepów z krwi pacjentów zainfekowanych wirusem HIV (*human immunodeficiency virus*) w Chennai (Południowe Indie), 71% szczepów gronkowców wykazywało oporność na oksacylinę (MRSA), jakkolwiek były one wrażliwe na ciprofloksacynę, gentamycynę, chloramfenikol.

U pacjentów w Pakistanie, Afganistanie i Indiach po gwałtownym trzęsieniu ziemi w 2005 r. (82 tys. zabitych, miliony rannych) wykazano obecność ponad 60% opornych patogenów MDR, głównie szczepów *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*. W przepelnionych szpitalach ranni byli leczeni empirycznie antybiotykami. Do najczęstszych infekcji należały zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi (89%), były to zakażenia wielobakteryjne (59%), bakterie lekooporne MDR (61%). Wśród izolowanych gatunków do najpowszechniejszych należały lekooporne patogeny MDR (w 92%); *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.* i *Acinetobacter spp.* Średni czas przebywania rannych, zainfekowanych podczas trzęsienia ziemi w 2005 r. był trzykrotnie dłuższy w porównaniu z czasem przebywania rannych niezainfekowanych (odpowiednio 37 i 13 dni),

głównie z powodu głębokich ran i infekcji trudnymi do zwalczania patogenami, powodującymi martwice.

Szczepy enterokoków odporne na wankomycynę VRE (*vancomycin-resistant enterococci*) stały się plagą wielu krajów rejonu Azji i Pacyfiku. Wysoką kolonizację Gram-ujemnymi, lekoopornymi szczepami, enterokokami opornymi na wankomycynę VRE wykazano na przykład u hospitalizowanych noworodków w szpitalach w Indore, w środkowych Indiach. Za przyczynę uznano częste stosowanie antybiotyków przez matki, jak również częstą antybiotykoterapię noworodków w oddziałach intensywnej opieki, z użyciem głównie gentamycyny, amikacyny, ciprofloksacyny, cefotaksimu. Zanotowano wielolekową oporność u 78% izolowanych szczepów *E. coli*, 66% *Klebsiella spp.*, 58% *Pseudomonas spp.* oraz 91% enterokoków. Wśród izolowanych bakterii Gram-ujemnych stwierdzono oporność wielolekową na chloramfenikol – 47%, karbapenemy – 58%, ampicylinę – 74%, aminoglikozydy – 70%, chinolony – 65%, klotrimazol – 47%, cefalosporyny – 71%. Notowano oporność wielolekową u 18% szczepów *E. coli*, 20% *Pseudomonas spp.*, 1,5% *Klebsiella spp.* Ponadto 47% enterokoków było opornych na wankomycynę. Wysoki od-

Optyizm „złotego wieku” (1945-1960) antybiotykoterapii minął bezpowrotnie, mimo wprowadzenia w latach 1970-1990 nowych antybiotyków o szerokim spektrum działania.

setek enterokoków wykazywał oporność na aminoglikozydy (HLAR – *high-level aminoglycoside resistance*) – 82%, ampicylinę – 82%, chloramfenikol – 38%, teikoplaninę – 44%, linezolid – 8%.

Ostatnio opisano szczep NDM-1 *Klebsiella pneumoniae* 05-506 (*super bug*), posiadający gen *bla*_{NDM-1}

metalo- β -laktamazy, który z wyjątkiem fluorochinolonów i kolistyny jest odporny na wszystkie antybiotyki (Yong i in. 2009; *Antimicrob Agents Chemother* 53: 5046). Gen odporności *bla*_{NDM-1} jest łatwo przenoszony za pomocą plazmidu do innych patogennych *Enterobacteriaceae*, których obecność potwierdzono m. in. w Indiach, Pakistanie, również u podróżujących z Azji do Wielkiej Brytanii.

Lekooporność bakterii jest aktualnie zjawiskiem powszechnym i stanowi poważny problem, zwłaszcza w zwalczaniu zakażeń wewnątrzszpitalnych (*nosocomial infections*). Szczep DT 104 *Salmonella typhimurium* jest odporny na pięć antybiotyków.

Karbapenemy uważane niegdyś za główną broń przeciwko pałeczkom Gram-ujemnym względnie beztlenowym *Enterobacteriaceae* (szczepy *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Yersinia*) są aktualnie nieskuteczne. Bakterie te wykształciły różne mechanizmy oporności, jak ekspresję enzymatyczną karbapenemaz serynowych, metalo- β -laktamaz MBL (*metallo- β -lactamase*), zmutowaną wersję poryn błony zewnętrznej lub ich obniżoną ekspresję w połączeniu z produkcją β -laktamaz o rozszerzonym spektrum działania ESBL (*extended spectrum β -lactamase*) lub AmpC- β -laktamaz. Aktualnie β -laktamazy typu ESBL produkowane są przez 50-66% izolowanych szczepów *Escherichia coli*, 25-42% *Klebsiella spp.*, 8-24% *Proteus mirabilis*.

▀ Lekooporność a zanieczyszczenie środowiska

Wszystkie enterokoki izolowane w Europie z produktów mięsnych są odporne na ampicylinę, chloramfenikol, streptomycynę, tetracyklinę. Spośród bakterii kwasu mlekowego LAB (*lactic acid bacteria*) izolowanych z mięsa, dla szczepów *L. plantarum*, *L. mesenteroides* i *Pediococcus pentosaceus* stwierdzono oporność na wankomycynę.

Dużym błędem było wprowadzenie awoparcyny, antybiotyku stymulującego wzrost w hodowlach zwierząt. Awoparcyna (zabroniona w Unii Europejskiej dopiero w 1998 r.) krzyżowo selekcionowała mutanty bakteryjne VRE odporne na wankomycynę.

W wodach śródlądowych można wykryć wiele substancji leczniczych, w tym leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych, regulujących poziom lipidów, β -blokerów, β -sympatykomimetyków, antybiotyków, hormonów. Głównym źródłem zanieczyszczenia lekami są ścieki komunalne i szpi-

talne, często zrucane do rzek. Weterynaryjne promotory wzrostu, takie jak spiromycyna czy wirginiamicyna, nie są stosowane w leczeniu ludzi, ale prawdopodobnie mogą wywoływać oporność bakterii na inne antybiotyki. Antybiotyki są także powszechnie wykorzystywane w hodowlach ryb. Do najczęściej podawanych należą tetracykliny, sulfonamidy, chloramfenikol.

Nawet w oczyszczalniach ścieków antybiotyki nie są całkowicie usuwane, np. tetracykliny usuwane w 95% nadal występują w stężeniu $> 10 \mu\text{g/l}$.

Szacunkowe dane wskazują, że ilość usuwanych antybiotyków ze ścieków komunalnych i szpitalnych nie przekracza zazwyczaj 60-90%. Coraz powszechniejsze są enterokoki odporne na wankomycynę VRE (*vancomycin-resistant enterococci*). Wysoka lekooporność bakterii dziedziczona w chromosomie bakteryjnym lub w materiale pozachromosomalnym wymienianym na drodze koniugacji (w plazmidach) jest przekazywana innym szczepom w transmisji horyzontalnej HGR (*horizontal resistance gene transfer*).

ność bakterii dziedziczona w chromosomie bakteryjnym lub w materiale pozachromosomalnym wymienianym na drodze koniugacji (w plazmidach) jest przekazywana innym szczepom w transmisji horyzontalnej HGR (*horizontal resistance gene transfer*).

▀ Lekooporność w gruźlicy

Niektóre szczepy gruźlicy są odporne na siedem różnych leków. Lekooporna gruźlica MDR-TB i ekstensywnie wielooporna XDR (*multidrug resistant/ extensively multidrug resistant tuberculosis*) definiowana jest zazwyczaj jako jednoczesna oporność na dwa leki pierwszego rzutu: rifampicynę (gen *rpoB*) i izoniazyd (geny *KatG* i *inhA*) (tab. 1. s. 27).

Ekstensywna lekooporność gruźlicy XDR-TB obejmuje dodatkowo oporność na którykolwiek z fluorochinolonów oraz dowolny z leków podawanych w iniekcjach (kanamycynę, amikacynę, kapreomycynę).

Dodatkowym problemem w leczeniu gruźlicy jest oporność krzyżowa, tzn. całkowita lub częściowa oporność bakterii w stosunku do antybiotyków/leków należących do tej samej lub spokrewnionej klasy chemicznej. Krzyżowa oporność MDR nie jest stuprocentowa w przypadku leków przeciwgruźliczych; przykładowo spośród fluorochinolo-

Tabela 1. Grupy leków stosowanych w leczeniu gruźlicy lekoopornej MDR oraz XDR*

Grupa leków	Komentarz
I	Leki pierwszego rzutu: izoniazyd, rifampycyna, pyrazinamid, etambutol; mutacja <i>katG</i> powoduje oporność na izoniazzyd; mutacja <i>rpoB</i> powoduje oporność na rifampycynę
II	Fluorochinony, ofloksacyna, levofloksacyna, moksifloksacyna, ciprofloksacyna; oporność na wszystkie fluorochinony związana jest z genem <i>gyrA</i> , dlatego uzasadnione jest stosowanie tylko jednego fluorochinonu
III	Leki podawane w iniekcjach: aminoglikozydy (streptomycyna, kanamycyna, amikacyna), polipeptydy (kapreomycyna, viomycyna); podobnie jak w przypadku fluorochinolonów nie jest zasadne stosowanie więcej niż jednego z grupy leków podawanych w iniekcjach
IV	Trzy klasy leków drugiego rzutu: tioamidy (etionamid, protonamid; geny oporności <i>inhA</i> oraz <i>ethA</i>), cykloseryna (lub pochodny terizidon), kwas aminosalicylowy
V	Heterogenna grupa leków o mało znanej efektywności lub wysokiej toksyczności; klofazimina, amoksylicyna, komoksiklaw, linezolid, karbapenemy (meropenem, imipenem), tioacetazon, klarytromycyna (nie figurują w zaleceniach WHO)

*Wg Caminero i in. 2010. *Lancet Infect Dis.* 10: 621-29

nów około połowa ofloksacynoopornych prątków jest wrażliwa na moksifloksacynę i/lub wysokie dawki levofloksacyny.

Zarówno MDR, jak XDR mogą być leczone właściwie dobranym zestawem leków przeciwgruźliczych. Zalecenia obejmują np. leczenie linezolidem przypadków, w których prątki gruźlicy są odporne na więcej niż siedem leków. Z powodu wysokiej toksyczności linezolidu (nie jest degradowany przez enzymy cytochromowe CYP450) u 25-45% pacjentów powstają powikłania w postaci neuropatii i zahamowania czynności szpiku (niedokrwistość/anemia).

Ekstensywna lekooporność gruźlicy XDR-TB wiąże się zazwyczaj ze znacznie gorszymi rokowaniami niż w „zwykłej” lekooporności MDR-TB, wymuszając metody inwazyjne, jak chirurgiczna resekcja zainfekowanego płuca. Światowy poziom MDR-TB ocenia się na 4,8% wszystkich przypadków (3,1% nowych zachorowań i 19,3% wśród pacjentów uprzednio już leczonych na gruźlicę). Wzrastające tendencje zachorowań na gruźlicę MDR-TB notuje się w krajach dawnego Związku Radzieckiego, w Chinach i Indiach. Szacuje się, że leczenie ponad 9 mln ludzi chorych na gruźlicę

wrażliwą na leki (koszt kuracji ok. 14 dolarów US) pozostaje w proporcji do ponad pół miliona osób chorych na gruźlicę MDR-TB (koszt leczenia rzędu tysięcy dolarów w okresie 12-18 miesięcy). Mimo leczenia, gruźlica MDR-TB wiąże się z wysokim ryzykiem zgonu.

Genetyczne aspekty lekooporności

Przekazywanie materiału genetycznego kodującego czynniki zjadliwości jest głównym mechanizmem ewolucyjnym drobnoustrojów. Wykazano np., że chorobotwórcze szczepy *Klebsiella* biorą udział w wymianie plazmidów z innymi bakteriami należącymi do *Enterobacteriaceae*. Niektóre szczepy *Klebsiella* zawierają plazmidy kodujące toksyny podobne do ciepłochwiejnej LT oraz ciepłostatej ST toksyny *Escherichia coli*. Czynniki wirulentne typu egzotoksyn mogą prowadzić do ciężkiego zespołu wstrząsu toksycznego i zgonu, jak np. w niektórych zakażeniach gronkowcem. Przykładem groźnej bakteryjnej toksyny, wytwarzanej często przez pozaszpitalne szczepy gronkowca złocistego opornego na metycylinę CA-MRSA (*community associated MRSA*), jest opisana w latach 30. ubiegłego wieku leukocydyna Pantona-Valentine'a

PVL (*Panton-Valentine leucocidin*), wywołująca martwicę tkanek. Leukocydyna PVL jest przekazywana szczepom gronkowca przez mobilnego faga zawierającego geny kodujące dwa produkty, które łączą się w kompleks zdolny do perforacji leukocytów człowieka. Choroby wywołane przez leukocydynę PVL mogą przybierać postać np. martwiczego zapalenia płuc.

Tworzenie bakteryjnego biofilmu i komunikacja między bakteriami QS (*quorum sensing*) może, jak się ocenia, nawet 1000-krotnie zwiększyć oporność bakterii na działanie antybiotyków. Przykładowo minimalne stężenie antybiotyku β -laktamowego ampicyliny hamujące wzrost *Klebsiella pneumoniae* (szczepu, który nie produkuje β -laktamazy) wynosiło 2 $\mu\text{g/ml}$, natomiast po wytworzeniu biofilmu ten sam szczep został zaledwie naruszony po 4-godzinym traktowaniu antybiotykiem w stężeniu 5000 $\mu\text{g/ml}$. Bardzo groźne są zakażenia górnych dróg oddechowych z wytworzeniem biofilmu bakteryjnego, w wyniku czego posiewy mogą być ujemne, a zakażenia mogą przebiegać często w postaci uporczywych nawrotów i są odporne na leczenie. Znanym przykładem jest tworzenie biofilmu przez populacje *Pseudomonas aeruginosa* i *Burkholderia cepacia* u pacjentów z mukowiscydozą. W schorzeniu tym jest produkowany w nadmiernych ilościach śluz, który stanowi bogate podłoże dla kolonizujących bakterii. Również wszczepiane protezy, katetery i stenty mogą stanowić podłoże dla biofilmów bakteryjnych. Spośród szczepów MRSA wykrytych w zainfekowanych próbkach krwi z różnych szpitali w Indiach ok. 78% izolowanych szczepów wykazywało oporność wielolekową, co stanowi ponad dwukrotnie wyższy poziom oporności wielolekowej w porównaniu z innymi regionami świata. Według innych badań w Indiach występowanie MRSA w infekcjach gronkowcowych sięgało 60%, w tym w wykrytych przypadkach posocznicy notowano 100% infekcji MRSA. Aktywność tworzenia biofilmu wykazano dla 26% izolowanych szczepów MRSA. Szczepy te były odporne na erytromycynę, klindamycynę, minocyklinę, tetracyklinę, rifampicynę, nitrofurantoinę, fluorochinolony i klo-

trimazol. Bakterie tworzące biofilm wykazywały również zmniejszoną wrażliwość na wankomycynę, teikoplaninę, nitrofurantoinę, dalfopristinę, linezolid. Ogólnie z doświadczeń hinduskich wynika, że bakterie tworzące biofilm były odporne na wiele leków MDR, a tworzenie biofilmu ściśle wiązało się z przewlekłymi infekcjami.

Większość bakterii ma wydajne systemy enzymatyczne usuwające z komórek antybiotyki i inne leki czy toksyczne związki chemiczne, zanim związki te zaczną działać. Bakterie Gram-ujemne zaopatrzone są w ścianę komórkową skutecznie broniącą przed dostępem leków. Szczególnie bakterie *Pseudomonas spp.* posiadają zarówno nieprzenikliwą ścianę komórkową, jak i wysoko wydajne enzymy – „pompy” eksportujące leki z komórki. Aby uniknąć skutków działania chinolonów i innych inhibitorów RNA lub DNA, bakterie podlegają wielu mutacjom. Przykładowo oporność na glikopeptydowy antybiotyk – wankomycynę wiąże się z precyzyjną przebudową pięciu genów odpowiedzialnych za syntezę komponentów ściany komórkowej, dotąd uznawanych za niepodlegające mutacjom.

Podsumowując, prognozy rozwoju lekooporności bakterii są niepokojące: wzrastająca liczba nowych leków, antybiotyków i ich powszechność stosowania stwarzają szczególnie dogodne warunki rozwoju i transmisji lekooporności, zwłaszcza w gorącym klimacie gęsto zaludnionych rejonów Azji. Najwyższe stężenia fluorochinolonów wykrywano w ściekach pochodzących ze szpitali z dużymi oddziałami chirurgicznymi. Ustalono, że w takich szpitalach przybliżone dzienne zużycie norfloksacyny i ciprofloksacyny na pacjenta może wynosić od 7,5 do 34,3 mg. Na przykład w ściekach sześcioletniego szpitala w Hanoi stężenia ciprofloksacyny wahały się w granicach od 1,1 do 44 $\mu\text{g/l}$, a norfloksacyny od 0,9 do 17 $\mu\text{g/l}$. Wartości te są porównywalne z wynikami badań przeprowadzonych w Szwajcarii, Szwecji i Niemczech.

Nowe trendy w zwalczaniu infekcji bakteryjnych

Niepowodzenia w rejestracji nowych leków mają negatywny wpływ na decyzje firm farmaceutycznych, które nie chcą podejmować ryzykownych inwestycji w badania i rozwój nowych leków. Wymownym przykładem był kosztowny wysiłek firmy GlaxoSmithKline w latach 1995-2001, gdy podjęto 70 projektów analizy przydatności prawie pół miliona związków chemicznych wobec 300 potencjalnych celów molekularnych. Wysiłek ten okazał się całkowitym niepowodzeniem, który nie przyniósł nawet jednego leku. Na rynku antybiotyków (zwłaszcza przeciw bakteriom Gram-ujemnym) w latach 90. czy nawet wcześniej nastąpił zastój.

Nowym podejściem jest wyszukiwanie inhibitorów bakteryjnych systemów sekrecji, szczególnie typu T3SS (*type III secretion system*) bakterii Gram-ujemnych. Analiza ponad 20 tys. związków chemicznych zaowocowała

wyodrębnieniem ok. 30 aktywnych związków (halogenowany salicylaldehyd, salicylaniliny, acylhydrazydy salicydenowe) hamujących sekrecję substratów T3SS, jednak nie hamują one wzrostu bakteryjnego. Najbardziej aktywne związki bezpośrednio blokują sekrecję T3SS, nie hamując ich transkrypcji.

Antybiotyki zwalczające bakterie Gram-dodatnie, w tym przeciwko gronkowcom MRSA, stały się atrakcyjnym celem z komercyjnego punktu widzenia firm farmaceutycznych. Takim przykładem sukcesu wprowadzenia na rynek nowego leku może być linezolid, daptomycyna, tigecyklina. Leki te niemal uniwersalnie zwalczają gronkowca MRSA. Linezolid i daptomycyna w niskich stężeniach hamują *Enterococcus faecium* i *Enterococcus faecalis*.

W przypadku bakterii wankomycynowrażliwych eksperymentalne preparaty – dalbawancyna i telawancyna są bardziej skuteczne od samej wankomycyny. Dalbawancyna jest skuteczna przeciwko niektórym subtypom enterokoków VRE.

Lipopeptydowy antybiotyk daptomycyna, zatwierdzony zarówno przez amerykańską FDA, jak i europejską EMEA do leczenia nietypowych zakażeń skóry cSSSIs (*complicated skin and skin structure infections*) okazał się dwukrotnie bardziej efektywny niż wankomycyna. Antybiotyk ten wykazuje istotną przydatność w leczeniu zakażeń gronkowcem złocistym MRSA.

Przykłady obiecujących eksperymentalnych preparatów farmaceutycznych i leków to: *lantibiotics*, tzn. peptydowe antybiotyki zawierające cykliczne aminokwasy tioeterowe, jak lantionina; nowe leki – telawancyna, oritawancyna (glikopeptydy), dalbawancyna (lipoglikopeptyd), iklaprim (inhibitor reduktazy kwasu dwuhydrofoliowego), cefrobiprol, ceftarolina, ceftazidim (cefalosporyny), amadacyklina (tetracyklina). Wymienione cefalosporyny i tetracyklina znajdują się obecnie w II/III fazie badań klinicznych leczenia zakażeń skórnych i tkanek miękkich.

Antybiotykoterapia nowymi lekami (często eksperymentalnymi, o wysokim stopniu toksyczności) jest aktualnie główną, lecz nie jedyną strategią walki z trudno leczonymi infekcjami bakteryjnymi (tab. 2. s. 32). Przykładem może być stosowanie nowych szczepionek przeciwko toksynom A i B *Clostridium difficile*: w nawrotowym zakażeniu tym patogenem konieczne jest ciągłe podawanie wankomycyny w okresie 7-22 miesięcy. Po podaniu szczepionek nastąpił kilkakrotny wzrost przeciwciał IgG przeciw toksynie A i 20-50-krotny wzrost przeciwciał IgG przeciw toksynie B. Po szczepieniu można było przerwać leczenie pacjentów wankomycyną.

Probiotyki

Oczekuje się, że powszechne wprowadzanie probiotyków przy jednoczesnej ścisłej kontroli antybiotykoterapii może znacząco ograniczyć dalszy rozwój lekooporności klinicznych szczepów patogenów bakteryjnych. Również podawanie probiotyków w trakcie antybiotykoterapii może zminimalizować destabilizację mikroflory bakteryjnej

Niepowodzenia w rejestracji nowych leków mają negatywny wpływ na decyzje firm farmaceutycznych, które nie chcą podejmować ryzykownych inwestycji w badanie i rozwój nowych leków.

Tabela 2. Zwalczanie bakterii: nie tylko antybiotykoterapia

nowe, skuteczniejsze szczepionki
terapeutyczne przeciwciała monoklonalne: pagimaximab/(kwas lipoteichowy), Biosynexus, III faza badań klinicznych
kombinacje inhibitorów β -laktamazowych z cefalosporynami piątej generacji
inhibitory komunikacji biofilmów bakteryjnych „quorum sensing”
inhibitory systemów sekrecji typu III T3SS (<i>type III secretory systems</i>) bakterii Gram-ujemnych (tiazolidinony, salicylaldehyd, acylhydrazydy salicylidynowe)
nizyna – zaliczana do substancji GRAS (i pochodne epiderminy: gallidermina)
lityczne enzymy bakteriofagów
profilaktyczne stosowanie probiotyków

pacjenta oraz zmniejszyć skutki uboczne antybiotykoterapii. Probiotyki współzawodniczą z bakteriami patogennymi o miejsce adhezji w przewodzie pokarmowym, produkując substancje przeciwbakteryjne, hamując zasiedlanie *B. vulgatus*, *Clostridium difficile*, *Clostridium histolyticum*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus* i niektórych szczepów *E. coli*. Probiotykowy szczep *Saccharomyces boulardii* wytwarza proteazy zdolne do rozkładu toksyn A i B wydzielanych przez *C. difficile*, a ostatnio dowiedziono, że probiotyk ten ma zdolność blokowania aktywacji kinaz proteinowych Erk 1 i Erk 2 przez toksynę A.

W odpowiedzi na probiotyki produkowane są defensyny w kryptach jelit przeciw bakteriom patogennym. Z kolei bakterie kwasu mlekowego produkują peptydy antybakteryjne, jak laktacyna B z *L. acidophilus*, plantarycyna z *L. plantarum*, nizyna z *Lactococcus lactis*. Opisane odkrycia dają naukowe podstawy zasadności wykorzystania probiotyków w profilaktyce zakażeń jelitowych. Profilaktyka probiotykowa jest już w niektórych ośrodkach stosowana rutynowo: w jednym z japońskich szpitali codziennie podaje się probiotyki noworodkom przyjętym do oddziałów intensywnej opieki jako wcześniaki lub w celach zabiegu chirurgicznego. Noworodkom podaje się 0,5 ml supernatantu z liofilizatu zawierającego *Bifidobacterium breve* BBG-01 ze skrobią kukurydzianą, z ok. 10^9 CFU bakterii.

Wykazano wiele prozdrowotnych skutków kuracji probiotykowych, jakkolwiek niewiele jest randomizowanych badań klinicznych probiotyków. Podawanie probiotyków dzieciom w wieku przedszkolnym redukowało częstość i długość trwania infekcji układu oddechowego. Profilaktyka probiotykowa może znaleźć zastosowanie w interwencjach chirurgicznych: w ciągu roku od przeszczepu u ok. 37% biorców wątroby rozwinęły się infekcje. Randomizowane badania wykazały istotną redukcję infekcji po podawaniu probiotyków/synbiotyków, w porównaniu do placebo (odpowiednio 48% wobec 13%)

Jedna z najczęściej cytowanych prac (Kaliomaki i in., 2001 *Lancet* 357: 1076) dotyczy podawania *Lactobacillus rhamnosus* GG kobietom w ciąży z historią atopowego zapalenia skóry, na 2-4 tygodnie przed rozwiązaniem. Po porodzie kobiety kontynuowały terapię probiotykową, jak również dzieci karmione butelką otrzymywały probiotyk przez 6 miesięcy. Kuracja powiodła się, czego dowodem było zmniejszenie przypadków atopowego zapalenia skóry u dzieci w wieku 2 lat.

W randomizowanych badaniach nie odnotowano ochronnej roli probiotyków u krytycznie chorych pacjentów w oddziałach intensywnej opieki. Autorzy postulują, że szczególnie w mniej ciężkich przypadkach posocznicy (*non severe sepsis*) profilaktyczne codzienne podawanie probiotyków pacjentom nie powinno być zalecane. Ogólnie aktualne wyniki

pozwalają na uznanie kuracji probiotykowych za bezpieczne, zdolne do odtworzenia prawidłowej mikroflory bakteryjnej, modulacji ogólnej i lokalnej (jelitowej) odpowiedzi immunologicznej.

Piśmiennictwo:

- Backs M., Healy B. (2008). Serious staphylococcal infections. *Clin Med.* 8: 535-538.
- Baron C. (2010). Antivirulence drugs to target bacterial secreting systems. *Curr Opin Microbiol.* 13: 100-105.
- Barraud D., Blard C., Hein F., Marcon O. i in. (2010). Probiotics in the critically ill patient: a double blind, randomized, placebo-controlled trial. *Intensive Care Med* 36:1540-1547.
- Borgdorff MW, Small PM. (2009). Scratching the surface of ignorance on MDR tuberculosis. *Lancet* 373: 1822-1824.
- Caminero JA, Sotgiu G., Zumla A., Migliori GB. (2010). Best drug treatment for multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 10: 621-29.
- Chitnis S., Chitnis V., Chitnis D. (2010). Emergence of multidrug resistant gram negative bacilli and enterococci from rectal swabs of newborn and their mothers from Central India. *Int J Infect Dis.* 14, Suppl. 1: 40-41.
- Clark T., Wiselka M. (2008). Clostridium difficile infection. *Clin Med.* 8: 544-547.
- Duong HA, Pham HA, Nguyen HT i in. (2008). Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluorochinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam. *Chemosphere* 72: 968-973.
- Ejaz M., Siddiqui AR, Rafiq A., Malik F. i in. (2010). Prevalence of multi-drug resistant tuberculosis in Karachi, Pakistan: identification of at risk groups. *Transact Royal Soc Tropical Med Hygiene* 104: 511-517.
- Eliopoulos GM (2009). Microbiology of drugs for treating multiply drug-resistant Gram-positive bacteria. *J Infect.* 59 Suppl.1: S17-S24.
- Falagasa ME, Maraki S., Karageorgopoulou DE, Kastoris AC i in. (2010). Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) Enterobacteriaceae isolates to fosfomicyn. *Internat J Antimicrob Agents* 35 240-243.
- Garzoni C., Emonet S., Legout L. i in. (2005). Atypical infections in tsunami survivors. *Emerg Infect Dis.* 11, 1591-1593.
- Goodman A., Lipman M. (2008). Tuberculosis. *Clin Med.* 8: 531-534.
- Ghoshal U., Garg A., Tiwari D.P., Ayyagari A. (2006). Emerging vancomycin resistance in enterococci in India. *Indian J Pathol Microbiol.* 49: 620-622.
- Hogberg LD, Heddimi A., Cars O. (2010). The global need for effective antibiotics: challenges and recent advances. *Trends Pharmacol. Sci.* 31: 509-515.
- Hoiby N., Bjarnsholt T., Givskov M., Molin S., Ciofu O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 33: 322-332.
- Hörmannspurger G., Haller D. (2010). Molecular crosstalk of probiotic bacteria with the intestinal immune system: Clinical relevance in the context of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol.* 300: 63-73.
- Ivanov IB, Gritsenko VA, Kuzmin MD. (2009). Phenotypic differences between coryneform bacteria isolated from seminal fluid of healthy men and men with chronic prostatitis syndrome. *Asian J Androl.* 11: 517-520.
- Jaworski A., Serwecińska L., Stączek P. (2005). Quorum sensing – komunikowanie się komórek w populacjach bakterii przy udziale chemicznych cząsteczek sygnałowych. *Post Biol Kom.* 32: 231-256.
- Kalliomaki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P., Isolauri E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 357: 1076-1079.
- Kang MW, Kim HK, Choi YS, Kim K. (2010). Surgical Treatment for Multidrug-Resistant and Extensive Drug-Resistant Tuberculosis. *Ann Thorac Surg.* 89:1597-602.
- Karska-Wysocki B., Bazo M., Smoragiewicz W. (2010). Antibacterial activity of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei against methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Microbiol. Res.* 165: (e-pub ahead of print).
- Khanal B., Shrestha S., Gyawali N. (2010). Blood culture isolates in a tertiary care hospital of Eastern Nepal: Trends in antimicrobial resistance. *Int J. Infect Dis.* 14, Suppl.1: 344.
- Kiani QH, Amir M., Ghazanfar M.A., Iqbal M (2009). Microbiology of wound infections among hospitalised patients following the 2005 Pakistan earthquake. *J Hosp Infect.* 73: 71-78.
- Kiratisin P. (2008). Bacteraemia due to non-typhoidal Salmonella in Thailand: clinical and microbiological analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 102: 384-388.
- Kubler A., Durek G., Zamirowska A. i in. (2004). Ciężka sepsa w Polsce, wyniki internetowej rejestracji 1043 przypadków. *Med. Sci Monitor* 10: CR 635-CR 641.
- Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J., Butt F., Balakrishnan R, Chaudhary U, et al. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis.* 2010 Aug 10. [Epub ahead of print].
- Kwak SH, Choi HR, Han, MK, Park HJ, et al. (2009). Risk Factor Analysis of Colonization with Vancomycin-Resistant Enterococci and Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Among Patients Admitted to a Medical Intensive Care Unit. *Am J Infect Contr.* 37: E173-E174.
- Majiduddin FK, Materon IC, Timothy G. Palzkill TG (2002). Molecular analysis of beta lactamase structure and function. *Int. J. Med. Microbiol.* 292: 127-137.
- Mathai D., Biedenbach DJ, Jones RN i in. (2008). Activity of daptomycin against Gram-positive bacterial isolates from Indian medical centres (2006-2007). *Intern J Antimicrob Agents* 34: 497-499.
- Missaghi B., Valenti AJ, Owens RC (2008). Clostridium difficile infection: a critical overview. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 10: 165-173.
- Morris DP (2007). Bacterial biofilm in upper respiratory tract infections. *Curr. Infect Dis Rep.* 9: 186-192.
- Mkrtychyan H., Gibbons S., Heidelberger S., Zlobh M., Limaki HK (2010). Purification, characterisation and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by Lactobacillus acidophilus n.v. Er 317/402 strain Narine. *Int J Antimicrob Agents* 35: 255-260.
- Oelschlaeger TA (2010). Mechanisms of probiotic action – A review. *Int J Med Microbiol.* 300: 57-62.
- Ohishi A., Takahashi S., Ito Y., Ohishi Y., Tsukamoto K., Nanba Y., et al. (2010). Bifidobacterium Septicemia Associated with Postoperative Probiotic Therapy in a Neonate with Omphalocele. *J Pediatr.* 156: 679-681.
- Pitsouni E., Alexiou V., Saridakis V., Peppas G., Falagas ME (2009). Does the use of probiotics/synbiotics prevent postoperative infections in patients undergoing abdominal surgery? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Clin Pharmacol.* 65: 561-570.
- Quigley EMM. (2007). Probiotics in the management of colonic disorders. *Curr Gastroenterol Rep.* 9: 434-440.
- Rayes N., Seehofer D., Neuhaus P. (2009). Prebiotics, probiotics, synbiotics in surgery- are they only trendy, truly effective, or even dangerous. *Langenbecks Arch Surg.* 394: 547-555.
- Ruiz FO, Gerbaldo G., Asurmendi P., Pascual LM et al. (2009). Antimicrobial activity, inhibition of urogenital pathogens and synergistic interactions between Lactobacillus strains. *Curr Microbiol.* 59: 497-501.
- Salminen S., Sonja Mylöm S., Meriluoto J., Collado MC, Vesterlund S., El-Nezami H. (2010). Interaction of probiotics and pathogens-benefits to human health? *Curr Opin Biotechnol* 21: 157-167.
- Shekhar C. (2010). Bacteria: Drug Resistance Spreads, but Few New Drugs Emerge. *Chem Biol* 17: 413-414.
- Telang NV, Satpute MG, Niphadkar KB, Joshi SG. (2010). An increased incidence of biofilm-producing multidrug-resistant methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a tertiary care hospital from India: A 2-year study. *Am J Infect Contr.* 38:165-166.
- Thamlikitkul V., Santiprasitkul S., Suntanonra L, et al. (2003). Skin flora of patients in Thailand. *Am J Infect Control*, 31: 80-84.
- Theuretzbacher U. (2009). Future antibiotics scenarios: is the tide starting to turn? *Int J Antimicrob Agents* 34: 15-20.
- Toomey N., Bolton D., Fanning S. (2010). Characterization and transferability of antibiotic resistance genes from lactic acid bacteria isolated from Irish pork and beef abattoirs. *Res Microbiol.* 161: 127-135.
- Uçkay I., Sax H., Harbarth S., Bernard L., Pittet D. (2008). Multi-resistant infections in repatriated patients after natural disasters: lessons learned from the 2004 tsunami for hospital infection control. *J Hosp Inf.* 68: 1-8.
- Vignesh R., Shankar E.M., Kumarasamy N., Irene P., Murugavel, K.G. i in. (2009). Predominance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus among HIV positive subjects with pyrexia of unknown origin in Chennai, Southern India. *J Infect.* 58: 313-314.
- Virella G. (2000). Mikrobiologia i choroby zakaźne. Wyd I. Urban & Partner, Wrocław, 644 ss.
- Wang H., Chen M., Ni Y., Liu Y., Sun H., Yu Y. et al., (2010). Antimicrobial resistance among clinical isolates from the Chinese Meropenem Surveillance Study (CMSS), 2003-2008. *Int J Antimicrob Agents.* 35: 227-234.
- Werner G., Fleige C., Ewert B. i in. (2010). High-level ciprofloxacin resistance among hospital-adapted Enterococcus faecium (CE17). *Int J Antimicrob Agents.* 35: 119-125.
- Yong D., Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR (2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in Klebsiella pneumoniae sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* 53: 5046-5054.

Adres Autora: prof. dr hab. Krzysztof L. Krzystyniak, professeur titulaire, Université du Québec à Montréal, Canada H3C 3P8; e-mail: ball@medyk.com.pl