

**ОБЗОРИ  
REVIEWS**

**ФЕНОТИПНИ И ГЕНЕТИЧНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ НА РЕЗИСТЕНТНОСТТА  
КЪМ КАРБАПЕНЕМИ ПРИ *ACINETOBACTER BAUMANNII*  
И *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

А. Петрова<sup>1,2</sup> и М. Мурджева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Катедра по микробиология и имунология, Фармацевтичен факултет, Медицински университет – Пловдив

<sup>2</sup>Лаборатория по микробиология, вирусология и клинична имунология, УМБАЛ “Св. Георги” – Пловдив

**PHENOTYPIC AND GENETIC CHARACTERISTICS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE  
TO CARBAPENEMS IN *ACINETOBACTER BAUMANNII*  
AND *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

A. Petrova<sup>1,2</sup> and M. Murdzheva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv

<sup>2</sup>Laboratory of Microbiology, University Hospital “Sv. Georgi” – Plovdiv

<b>Резюме:</b>	Последните години са белязани от глобално нарастващия проблем с резистентността към антимикробните средства и предимно на тези с широк спектър на действие като карбапенемните антибиотици. Това особено касае представителите на Грам-отрицателните неферментативни бактерии, като <i>Acinetobacter baumannii</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Механизмите на резистентност са разнообразни и често комбинирани. Водещ фактор при резистентността към карбапенеми у ацинетобактер се счита продукцията на карбапенемази клас оксацилинази. При псевдомонас все още основна роля играят загубата на трансмембрания OprD протеин в съчетание с хиперекспресията на ключови ефлукс помпи, а продукцията на карбапенемази клас металоензими е по-скоро второстепенна. Тази тенденция в световен мащаб корелира и със ситуацията в нашата страна.
<b>Ключови думи:</b>	антибиотична резистентност, Грам-негативни неферментативни бактерии, карбапенеми
<b>Адрес за кореспонденция:</b>	Атанаска Петрова, Катедра микробиология и имунология, Фармацевтичен факултет, МУ – Пловдив, e-mail: atanasia_petroff@abv.bg
<b>Summary:</b>	The last years of our contemporaneity are stamped by the increasing problem concerning resistance to antimicrobial drugs especially those with broad spectrum of activity as carbapenems. This is of a direct concern of Gram-negative non-fermenters facing <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . The mechanisms of resistance are of great variety and often combined. The production of carbapenem-hydrolyzing enzymes class oxacillinases is considered the main factor of carbapenem resistance in <i>Acinetobacter</i> whereas in <i>Pseudomonas</i> the loss of transmembrane OprD protein together with the hyperexpression of some major efflux pumps are assumed to lead to this type of resistance. The production of metalloenzymes in the latter is considered to play a secondary role. The epidemiological situation in our country resembles the pattern of worldwide tendency.
<b>Key words:</b>	antibiotic resistance, Gram-negative non-fermenters, carbapenems
<b>Address for correspondence:</b>	Atanaska Petrova, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy, Medical University – Plovdiv, e-mail: atanasia_petroff@abv.bg

## ВЪВЕДЕНИЕ

Няколко десетилетия след въвеждането на мощните широкоспектърни антибиотици лекарствената резистентност е глобално разпространен феномен. Развитието на резистентни щамове се превръща в един от водещите проблеми на съвременната медицина. Факторите са многобройни: масовата, нерационална употреба на антибиотици от лекари и пациенти; широкото им използване в животновъдството; болничната политика за закупуване на евтини лекарства; нисък контрол и превенция на инфекциите, свързани с медицинското обслужване (ИСМО); липса на единна система за наблюдение и анализиране на данните по места; фактът, че фармацевтичната индустрия изоставя в създаването и производството на нови лекарствени средства и др.

Инфекциите, свързани с медицинското обслужване и причинени от мултирезистентни организми, в близко бъдеще заплахват да станат неконтролируеми. Това е особено валидно за интензивните отделения поради спецификата на медицинските грижи в тях и рязко нарастващия брой изолати.

Неферментативните Грам-отрицателни бактерии са широко разпространени в природата. Много от тях са опортюнистични патогени, асоциирани с вътреболнични инфекции. Групата на карбапенемните антибиотици е ефективна срещу повечето от тях. Някои представители, като *Stenotrophomonas maltophilia* и *Flavobacterium spp.*, притежават естествена резистентност към карбапенеми, частично обуславяща се от експресията на вродени метало-бета-лактамази (MBL). От друга страна, при неферментативни бактерии с клинично значение като *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*, резистентността към карбапенеми се очертава като трайно нарастваща тенденция, също до известна степен обусловена от придобити MBL-кодиращи интегрони и респективно MBL продукция [58].

Настоящият обзор се фокусира върху механизмите на резистентност към най-често използваните карбапенеми – имипенем и меропенем, за лечение на инфекции от *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* в болнични условия.

### **PSEUDOMONAS AERUGINOSA И РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ КАРБАПЕНЕМИ**

Псевдомонасите, в началото приети за опортюнистични микроорганизми, днес имат определен патогенен потенциал предимно за имунокомпрометирани пациенти. Сред тях с клинично значение се отличава *P.aeruginosa*, който може да причини ИСМО с висока смъртност. Това е Грам-отрицателен неферментативен

бактерий, силно устойчив във външната среда, способен да се развива дори в дезинфекционни разтвори. Патогенността и мащабите на разпространението му до голяма степен зависят от неговата способност да образува слайм – патогенен фактор, който не само го предпазва от фагоцитозата, но и участва в образуването на биофилм, допълнително подсилващ устойчивостта на формиращите го микроорганизми към антимикробни средства.

Обикновено псевдомонасите инфекции са трудни за лечение, най-вече поради мултирезистентността на тези микроорганизми към антимикробните агенти. При наличие на резистентност и към карбапенеми терапевтичните възможности се свеждат до минимум [32, 58]. До момента като доминиращ механизъм за карбапенемна резистентност към меропенем и имипенем, но не и към ертапенем, при *P. aeruginosa* се счита загубата на трансмембрания OprD порин [39]. Важна роля играе и MexAB-OprM ефлукс помпата, детерминираща резистентност към меропенем (счита се, че имипенем не е субстрат за тази помпа), в съчетание със загуба на OprD и повишена активност на индуцибилната цефалоспориноаза ampC. MexAB-OprM ефлукс помпата е конститутивно експресирана във всички изолати *P. aeruginosa*. Свърхекспресията на помпите Mex CD-OprJ и Mex XY-OprM също може да доведе до карбапенемна резистентност, въпреки че при нормални условия на култивиране на бактериите те не се експресират. Последната ефлукс помпа от резистонодуларната дивизия (RND) в лицето на Mex EF-OprN, изглежда, не играе роля при карбапенемна резистентност [39]. RND е едно от петте семейства ефлукс помпи, характерно само за Грам-негативните бактерии. То се състои от три белтъка (триплетен канал), ситуирани съответно в цитоплазмената мембрана, периплазмената област и външната мембрана. За първи път подобен вид помпи са доказани независимо при *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* през 1990 г. [25, 38].

Карбапенем-хидролизиращите бета-лактамази, т.нар. карбапенемази, са потенциален допълващ механизъм на резистентността при псевдомонас [58].

### **ACINETOBACTER BAUMANII И РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ КАРБАПЕНЕМИ**

Ацинетобактерите са също нозокомиални патогени с все по-нарастващо клинично значение. Те са едни от водещите причинители на ИСМО, вкл. пневмонии, асоциирани с изкуствена вентилация, сепсиси, тежки уринарни инфекции и менингити. Главен представител на рода, свързан с човешката патология, е *A. baumannii*.

В свое изследване от 2009 г. микробиолози от Оксфорд (Gaddy et al.) откриват, че *A. baumannii* е не само в състояние да образува биофилм върху стъклени и пластмасови повърхности, но благодарение на трансмембрания OprA белтък е способен да се адхирира здраво към алвеоларния епител [16]. Производството на биофилм обяснява способността на *A. baumannii* да преживява в различни повърхности и условия в болниците – по чаршафи, легла, катетри и канюли, дори при сухи условия на средата, за разлика от псевдомонас, който предпочита влажни хабитати [16, 32]. Веднъж намиращи се в болнична среда, мултирезистентните *Acinetobacter* причиняват рецидивиращи инфекции. В повечето случаи се установява един доминиращ ендемичен щам [1, 4, 10, 14, 23, 24, 30, 40].

Според друго проучване на Munoz-Price и колектив в Чикаго от 2008 г. продължителната колонизация в отделението (за около 42 месеца и засягане на повече от 17% от пациентите) може да допринесе за поява на ендемично огнище на *A. baumannii* [29]. Такива вече са описани в болници в Бруклин, Чикаго, северозападна Индиана, Детройт и градове в Европа, Южна Америка, Африка, Азия и Близкия изток [13, 26, 28, 30]. Същото чикагско проучване показва по-висока смъртност сред пациенти с инфекции, причинени от мултирезистентни щамове на *Acinetobacter*, отколкото при пациенти, инфектирани с чувствителни щамове на *Acinetobacter* или незаразени пациенти. Клиничните прояви са инфекции на уринарния тракт, пневмония и сепсис. Леталитетът – 28-32%, корелира с този при други Грам-отрицателни бактерии. *Acinetobacter*-асоцираната пневмония се среща най-вече при пациенти на механична вентилация и за нея е характерно, че се проявява късно [29].

Интересен е фактът, че до средата на 1990 г., почти всички видове на рода се отличават с висока чувствителност към имипенем [58]. Днес, за по-малко от 25 години, все повече нарастват изолатите, резистентни на имипенем и меропенем – най-често употребяваните в болнична среда карбапенени. Например в повече от 300 болници в САЩ, резистентността към карбапенени при 3601 изолата от *A. baumannii* се е увеличила от 9% през 1995 г. на 40% през 2004 г. [29].

Механизмите, обуславящи тази резистентност, са няколкоко:

- промяна в пеницилин-свързващите протеини (PBP) или загуба на външномембранните протеини (OMP) с маса 22,5 или 29 kDa;
- намалена експресия на 33-36 kDa OMP;
- продукция на клас „Д“ оксацилинази и клас „Б“ MBL.

Все още ролята на всички тези механизми не е напълно изяснена. Счита се, че продукцията на оксацилинази и промяната в PBP 2 са най-често наблюдаваните механизми. Продукцията на MBL се определя като второстепенен механизъм, и то само в присъствието на някои от останалите. Копродукцията на оксацилинази и MBL не е необичаен феномен за *A. baumannii* [58].

Голямата част от информацията за ИСМО, асоциирани с *Acinetobacter* и *Pseudomonas*, се основава на епидемиологични проучвания. Инфекции от *A. baumannii* са рискови при пациенти с отслабена имунна система. Освен дълъг престой в реанимация, предразполагащи фактори за колонизация и инфекция са скорошна операция, централна съдова катетеризация, трахеостома, механична вентилация, ентерално хранене и лечение с трето поколение цефалоспорини, флуорохинолони или карбапенени. Вероятността да се изолира *A. baumannii* от пациент в болница се определя от времето на болничния престой, тежестта на заболяването, от фактори като колонизационен натиск и съотношение квалифицирани сестри/пациенти и не на последно място от рационалната антибиотична политика, ротацията и реда на изписване на антибиотиците. Инфекциите от *Acinetobacter* често се проследяват до общ източник на заразяване. Най-често това е замърсено оборудване за респираторна терапия и вентилатори, замърсени ръце на лекари и особено сестри, които са обгрижвали колонизирани или инфектирани пациенти или са докосвали замърсени повърхности и екскрети на болния [15, 43].

От особена важност е да се уточнят понятията „мултирезистентност“ и „панрезистентност“ при Грам-отрицателните микроорганизми. Тези термини търпят постоянни промени. Това е така, защото благодарение на специфичните механизми на резистентност към карбапенени при тези микроорганизми, тя в повечето случаи не е самостоятелно явление, а е съчетана с намалена чувствителност и към други групи антимикробни средства. Повечето автори приемат, че мултирезистентни са ацинетобактери и псевдомонаси с намалена чувствителност към една от следните пет групи антибиотици и химиотерапевтици: антипсевдомонасни цефалоспорини, антипсевдомонасни бета-лактами с бета-лактамини инхибитори, антипсевдомонасни флуорохинолони, антипсевдомонасни карбапенени и аминокликозиди [32].

Според публикувания справочник на Американската общност по инфекциозни болести в сътрудничество с американски пневмолози като панрезистентни се приемат всички Грам-отрица-

телни микроорганизми, резистентни на антимикробните средства, използвани за емпирична терапия на вентилатор-асоцирана пневмония. Най-често панрезистентността е към цефепим, цефтазидим, имипенем, меропенем, пиперацилин/тазобактам, ципрофлоксацин, левофлоксацин [5]. Аминогликозидите не са включени в този списък за *Pseudomonas*, тъй като монотерапията с тях при тези инфекции често е неуспешна [31]. Във всички случаи на псевдомонасна бактериемия е препоръчително започване на своевременно комбинирана антибиотична терапия, факт който се потвърждава при проучване при 200 пациенти. Разликата в смъртността при монотерапия (47%) и комбинирана терапия (27%) е статистически значима [17]. При *Acinetobacter* важат същите критерии, като се включва и чувствителността към аминогликозиди. И при двата микроба трябва да се съблюдава и резистентността към колистин и полимиксин Б, тъй като често те са единственото средство на избор при полирезистентни щамове [32].

В световен мащаб чувствителността към карбапенеми е около 98% за семейство *Enterobacteriaceae* и варира между 60% и 83% за *P. aeruginosa* и *A. baumannii* по данни, представени от Meropenem Yearly Susceptibility Test Information Collection (MYSTIC), Europe, за периода 2004-2005 г. [19, 51, 52].

#### КАРБАПЕНЕМИ И КАРБАПЕНЕМАЗНИ ЕНЗИМИ, ОБУСЛАВЯЩИ РЕЗИСТЕНТНОСТ

Карбапенемите са група бета-лактамни антибиотици с широк спектър на антибактериална активност, чието действие се опосредства чрез инхибиране на синтеза на клетъчната стена и най-вече процеса на транспептизация (напречното свързване на пептидогликана). В повечето случаи те са „тежката артилерия“ като средство на избор при сериозни вътреболнични и придобити в обществото инфекции. Първоначално са получени от thienamycin, естествен дериват от *Streptomyces cattleya* [8]. Досега създадените средства от този клас имат ниска бионаличност при перорален прием. Ето защо предназначениите за болнична употреба карбапенеми се употребяват парентерално. Карбапенемите се подразделят от Shah и Isaacs на три групи [11, 45, 57]:

– *Група 1* – включва широкоспектърни карбапенеми с ограничена активност срещу неферментативните Грам-отрицателни бактерии. Те са подходящи за лечение на придобити в обществото инфекции. Пример за такъв карбапенем е ертапенем, одобрен от FDA през 2001 г.;

– *Група 2* – широкоспектърни карбапенеми с активност срещу неферментативни Грам-отри-

цателни бактерии, подходящи за лечение на инфекции, свързани с медицинското обслужване. Тук се включват: 1) меропенем – одобрен от FDA през 1996 г. и 2) имипенем или имипенем/циластатин, одобрен от FDA през 1985 г. Имипенем може да се хидролизира от дехидропептидазата в бъбреци на млекопитаещи до нефротоксичен продукт, затова често се прилага с дехидропептидазния инхибитор циластатин;

– *Група 3* – карбапенеми с клинична активност срещу MRSA. В тази група е разупенем, одобрен през 2010 г. от FDA.

Особеностите в молекулната структура на карбапенемите ги правят устойчиви на повечето бета-лактамази с изключение на карбапенемазите.

Класификацията на бета-лактамазите може да се дефинира на базата на молекулната им структура (по Ambler) или на функционалната им активност [12]. В миналото, преди ерата на рутинното клониране и секвениране на гени, всяка нова бета-лактамаза се е анализирала биохимично, с последващо проучване на хидролитичните и инхибиторни характеристики. Така с течение на годините се е оформила и наложила функционалната класификация на Busch, Jacoby и Medeiros [12] (табл. 1). Тя разделя бета-лактамазите на четири основни групи с няколко подгрупи във втора и трета група, диференцирани на базата на субстратната специфичност и инхибиторен профил.

Групата на карбапенем-хидролизиращите ензими включва:

– молекулярен клас „А“ серин-съдържащи карбапенемази, принадлежащи към функционална група 2f;

– клас „Б“ метало-бета-лактамази, принадлежащи към функционална група 3;

– молекулярен клас „Д“ серин-съдържащи карбапенемази (оксацилинази), принадлежащи към функционална група 2df.

Карбапенемазите представляват най-многогранната и гъвкава фамилия на бета-лактамазите, характеризираща се с най-широкия хидролитичен спектър сред тези ензими. Много от тях хидролизират почти всички бета-лактамни антибиотици и не се инхибират от стандартните бета-лактамни инхибитори като клавуланова киселина, сулбактам и тазобактам. Някои автори предпочитат термина „карбапенем-хидролизиращи ензими“, поради факта, че означавайки ги като карбапенемази, се подразбира само един аспект от тяхната хидролитична активност. Въпреки това в световната литература като цяло се е наложило названието „карбапенемази“ [41].

Таблица 1. Основни семейства  $\beta$ -лактамази с клинично значение

Семейство ензими	Функционална група или подгрупа	Брой ензими	Репрезентативни ензими
CMY	1, 1e	50	CMY-1 to CMY-50
TEM	2b, 2be, 2br, 2ber	172	
	2b	12	TEM-1, TEM-2, TEM-13
	2be	79	TEM-3, TEM-10, TEM-26
	2br	36	TEM-30 (IRT-2), TEM-31 (IRT-1), TEM-163
	2ber	9	TEM-50 (CMT-1), TEM-158 (CMT-9)
SHV	2b, 2be, 2br	127	
	2b	30	SHV-1, SHV-11, SHV-89
	2be	37	SHV-2, SHV-3, SHV-115
	2br	5	SHV-10, SHV-72
CTX-M	2be	90	CTX-M-1, CTX-M-44 (Toho-1) to CTX-M-92
PER	2be	5	PER-1 to PER-5
VEB	2be	7	VEB-1 to VEB-7
GES	2f	15 <sup>d</sup>	GES-2 to GES-7 (IBC-1) to GES-15
KPC	2f	9	KPC-2 to KPC-10
SME	2f	3	SME-1, SME-2, SME-3
OXA	2d, 2de, 2df	158	
	2d	5	OXA-1, OXA-2, OXA-10
	2de	9	OXA-11, OXA-14, OXA-15
	2df	48 <sup>e</sup>	OXA-23 (ARI-1), OXA-51, OXA-58
IMP	3a	26	IMP-1 to IMP-26
VIM	3a	23	VIM-1 to VIM-23
IND	3a	8	IND-1, IND-2, IND-2a, IND-3 to IND-7

Клас „А“ серин-съдържащи карбапенемази от функционална група 2f се доказват спорадично в клинични изолати от тяхното откриване преди повече от 25 години. Техният хидролитичен механизъм изисква серин. Всички имат способността да хидролизират широк спектър от бета-лактами, в това число карбапенеми, цефалоспорици, пеницилици и азтреонам, като същевременно се инхибират от клавуланова киселина и тазобактам. Кодират се от хромозомни и плазмидни гени. След 2000 г. плазмидни GES-2 и KPC-2 гени са доказани при *P. aeruginosa*, съответно в Южна Африка и Колумбия [58]. За Европа все още няма данни за установяването на подобни ензими при *P. aeruginosa*.

Клас „Б“ метало-бета-лактамази (MBL), група 3, са цинк-зависими ензими, характеризираци се с възможността да хидролизират карбапенеми. Резистентни са към наличните бета-лактамазни инхибитори (клавуланова киселина, сулбактам и тазобактам), но се инхибират от хелатори на метални йони като EDTA (калциево динатриев етилендиамин тетраацетат) и SMA (натриева меркаптооцетна киселина). Субстратният им спектър е твърде широк – освен карбапенеми хидролизират цефалоспорици, пеницилици, но не и азтреонам. MBL се подразделят на ендogenous (хромозомно кодирани) и придобити. Хромозомните MBL гени трудно се трансферират и са по-често срещани в

опортюнистични патогени с по-слабо клинично значение като *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* и *Myroides*. От друга страна, се наблюдава драматично нарастване на придобитите или трансферабилни семейства на металоензимите. Най-често срещаните фамилии включват: VIM, IMP, GIM, SIM и SPM, които се локализираат върху интегрони под формата на касети от гени. Когато тези интегрони се асоциират с плазмиди или транспозоми, трансферът им между бактерии е изключително улеснен [58].

Първият IMP-1 ензим е открит в клиничен изolat на *Serratia marcescens* през 1988 г. в Япония [58]. Девет години по-късно VIM-1 е изолиран във Верона, Италия, а VIM-2 – във Франция, и двата – в изолати от *P. aeruginosa*. В момента семейството на IMP се състои от над 26 члена, а на VIM – от 23. Следва изолирането на SMP-1 в Сао Пауло (Бразилия) в изолати на *P. aeruginosa*, GIM-1 в Германия в изолати на *P. aeruginosa*, SIM-1 в Сеул (Южна Корея) в изолати на *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [41, 58].

След тяхното откриване SPM, GIM и SIM не са доказвани извън границите на страните, в които са били изолирани за първи път. За разлика от тях VIM и IMP продължават да се установяват във все повече страни по света, основно в изолати на *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и семейство Enterobacteriaceae [58].

Клас „Д“ серин-съдържащи карбапенемази (оксацилинази) принадлежат към група 2df. Първата оксацилиназа е описана от Paton и сътр. през 1993 г. [33]. Ензимът е бил доказан в изолиран през 1985 г. мултирезистентен *A. baumannii* при пациент от Единбург, Шотландия [41]. Впоследствие са открити огромно многообразие от оксацилинази, предимно в изолати на

*A. baumannii*. Те се обособяват в девет подгрупи, като най-често срещаните при *A. baumannii* са в подгрупи 1, 2, 3 и 4 [18, 41] (таблица 2). Тези ензими хидролизират клоксацилин или оксацилин и карбапенеми. Слабо се инхибират от клавуланова киселина и тазобактам, но не и от EDTA. Кодират се от хромозомни и плазмидни гени.

Таблица 2. Подгрупи и подсемейства на семейство ОХА-карбапенемази

Подгрупа	Подсемейство	Допълнителни ОХА-членове
1	ОХА-23 (ARI-1)	ОХА-27, ОХА-49
2	ОХА-24	ОХА-25, ОХА-26, ОХА-40, ОХА-72
3	ОХА-51	ОХА-64 to ОХА-71, ОХА-75 to ОХА-78, ОХА-83, ОХА-84, ОХА-86 до ОХА-89, ОХА-91, ОХА-92, ОХА-94, ОХА-95
4	ОХА-58	ОХА-96
5	ОХА-55	ОХА-SHE
6	ОХА-48	ОХА-54, ОХА-SAR2
7	ОХА-50	ОХА-50а до ОХА-50d, PoxB
8	ОХА-60	ОХА-60а до ОХА-60d
9	ОХА-62	Няма описани

#### ПРОУЧВАНИЯ ВЪРХУ КАРБАПЕНЕМНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА *ACINETOBACTER* И *PSEUDOMONAS*, ИЗОЛИРАНИ В БЪЛГАРИЯ

През последните 10 години в страната ни се работи упорито по проблемите на карбапенемната резистентност. По данни на БУЛСТАР, представени на Конгреса на детските пневмокози (Пловдив, октомври 2014 г.) от Националния консултант по микробиология и директор на Национален център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) – проф. Т. Кантарджиев, резистентността към имипенем при псевдомонасите в страната за периода 2004-2013 г. се понижава леко (от 18,7% през 2004 г., когато е най-висока) до 13% през 2013 г., като най-ниска е била през 2007 г. – 6,8%. При меропенем резистентността се движи между 8,7% през 2009 г., когато е била най-ниска, и 15,3% през 2012 г., когато отбелязва пик. За разлика от псевдомонас резистентността при ацинетобактер при тези два карбапенема значително и експоненциално нараства от 16% през 2007 г. до 44,6% през 2013 г. за имипенем, респективно от 18% през 2007 г. до 49,1% през 2013 г. за меропенем.

През 2009 г. доц. Теменужка Стоева от МУ – Варна, доказва първите ОХА-58 продуциращи *A. baumannii* от клинични изолати в България [3]. За първи път е и идентифициран intrinsic bla-OXA-51 гена в изолати на *A. baumannii*, както и широкото разпространение на bla-OXA-23 и bla-OXA-58 сред клинични изолати [3, 46, 47]. Въпреки сравнително слабата способност на окса-

цилиназа 51 да хидролизира карбапенеми, свръхекспресията на ензима често се асоциира с понижена чувствителност и дори резистентност към тези антибиотици. Като водеща причина за това явление се смята наличието на ISAbal1 инсерционна последователност, асоциирана към bla<sub>OXA-51</sub>-like гена. Този промоторен елемент се оказва високоефективен при *A. baumannii* за индуциране на карбапенемна резистентност [37, 50].

На Десетия конгрес на Българската асоциация на микробиолозите в Пловдив, България, през април 2012 г. доц. Таня Стратева и кол. от МУ – София, представят собствени данни за доказан ендемичен клон от щамове *A. baumannii* от университетска болница в София, продуциращи ArmA 16SpPHK метилази и ОХА-23 карбапенемази [4].

През 2012 г. доц. Росица Вачева и съавт. съобщават за ендемичен взрив от ОХА-23, продуциращ *A. baumannii* в Бургаската окръжна болница [1]. Година по-късно отново Вачева и кол. публикуват данни за хиперекспресията на MexXY-OrpM рефлукс помпата и загубата на OrpD протеина като водещи фактори за карбапенемна резистентност при клинични изолати *P. aeruginosa* от български болници [53].

През същата 2013 г. Божана Тодорова и екип от НЦЗПБ доказват първият ОХА 24, продуциращ *A. baumannii* (48). През 2008 г. колектив от Мюнхен, в сътрудничество с MBP – Институт, София, и проф. Емма Кюлеян съобща-

ват за два изолата *P. aeruginosa* от урина, съответно български и немски щам, носители на нови VIM-2 гени: VIM 15 и VIM 16 [44]. Все още няма други доказани металоензим-продуциращи псевдомонаси в страната ни, въпреки че подобни щамове са установени във всички наши съседни държави – Гърция, Сърбия, Румъния, Турция, без Македония [9, 22, 27, 28, 31, 36, 49].

Обобщено проучване от доц. Р. Вачева и кол. върху 106 мултирезистентни *A. baumannii*, изолирани от 11 български болници за периода 2002-2013 г. показва, че сред изолатите не са установени карбапенемазите blaKPC, blaGES, blaVIM и blaIMP. В допълнение на най-често срещания карбапенемаза-кодиращ ген от клас D – OXA-23, се откриват още OXA-53 и за първи път през 2013 г. и OXA-40. Типирането с AFLP и VNTR предполага разпространение на няколко клона в болниците [54].

*A. baumannii* и *P. aeruginosa* са водещите клинични изолати и в някои рискови клиници (Реанимация, Изгаряния, Хирургия) на най-голямата българска болница – УМБАЛ „Св. Георги“ – Пловдив. Извършените проучвания върху тяхната резистентност към карбапенеми показаха, че при ацинетобактер главен фактор, определящ тази резистентност, е продукцията на OXA-23 ензими, докато при псевдомонас на този етап основна роля играе хиперекспресията на MexXY-OrfM ефлукс, в някои случаи съчетана със загубата на OprD протеина [2, 35].

#### ОПРЕДЕЛЯНЕ НА КАРБАПЕНЕМАЗИ – ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО ЗА КЛИНИЧНАТА МИКРОБИОЛОГИЧНА ПРАКТИКА

Съмнение за продукция на карбапенемази от бактериите буди всяка детекция на повишена минимална инхибираща концентрация (MIC) на карбапенемите спрямо бактериални изолати. За фенотипен скрининг на карбапенемазна продукция се използват най-често модифицираният Ходж тест и хромогенен агар за определяне на KPC (карбапенемази-продуциращи щамове). Модифицираният Ходж тест (МХТ), познат още като “тест на детелиновото листо”, е бърз и лесен за изпълнение. В зависимост от техниката и използваните материали чувствителността и специфичността на теста за Грам-отрицателните неферментативни бактерии варират съответно в рамките на 78-100% и 57-98%. Положителен резултат (продукция на карбапенемаза от изолата) се отчита при прорастването на инокулума от контролен *E. coli* ATCC 25922 към диска с имепенем [20, 21]. Според последни проучвания по-подходящо при скринирането на псевдомонасите е използването на *Klebsiella pneumo-*

*niae* ATCC 700603 като индикаторен щам вместо стандартния *E. coli* ATCC 25922. Това води до значително подобряване на чувствителността, специфичността и възпроизвеждането на резултатите. Като основна причина се посочва инхибиране на растежа на инокулума от *E. coli* ATCC 25922 от тестваните щамове *P. aeruginosa* – явление, което не е било наблюдавано при замяна на индикаторния щам с *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 [34].

Съществува голямо разнообразие от хромогенни агари за доказване на карбапенемази-продуциращи микроорганизми. Все още липсват достатъчно данни за чувствителността им в сравнение с Ходж теста при Грам-отрицателните неферментативни бактерии.

Като удобни фенотипни методи за детекция на металоензимите в световната практика са се наложили двойнодисковият синергичен метод с дискове имепенем и дискове EDTA или EDTA+SMA, и комбинираният дисков метод с дискове имепенем и имепенем + EDTA. Процентът на достоверност достига до 100% при *P. aeruginosa* и над 95,7% при *A. baumannii* [20, 21, 41, 56]. За брейкпойнт при отстояние на дисковете от 15 mm се приема разлика в диаметъра на зоната с инхибиран растеж от 5 mm при синергичния метод и съответно 6 mm при комбинирания дисков метод [7, 42]. Съществува и комбиниран епсилометър тест (Е-тест) имепенем + имепенем/ЕДТА, съпоставим по качество, прецизност и достоверност на резултатите с предходните (чувствителност от 94% и специфичност от 95%) [55]. Единствено по-високата цена е бариера този метод да се наложи като рутинен за скрининг на металоензимите. При използване на стандартните Е-тестове, съдържащи двустранни степенни разреждания на имепенем (4-256 mg/L) и имепенем (1-64 mg/L), комбиниран с EDTA (320 mg/L), за положителен резултат се приема, ако минималната инхибираща концентрация на имепенем в присъствието на EDTA намалява с 2 или повече разреждания [42].

Все още не съществува тест за фенотипна детекция на оксацилиназите. За бърза, точна и надеждна диагностика на карбапенемази се разчита на молекулно-генетични методи като класическа PCR с последваща гел-електрофореза и real-time PCR технология, която дава възможност за проследяване на амплифицирания продукт в реално време.

За прецизно доказване на детектирания ген се извършва и секвениране, което позволява разчитане на точната нуклеотидна последователност на гена, както и откриване на евентуални мутации.

От голямо значение при проучването на болнични изолати е да се определи дали реално те представляват различни щамове, или се касае за няколко ендемични щамове. За тази цел се разчита на по-особена PCR технология, т.нар. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). При този анализ се използват случайни късоверижни праймери (8-12 нуклеотидни бази). Получените амплифицирани фрагменти се подлагат на класическа гел-електрофореза. По профила на оформените ивици (бендове) може да се съди за генетичната идентичност на тестваните изолати [6]. Със същата цел биха могли да се използват рестрикционният ендонуклеазен анализ и пулсовата гел-електрофореза.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

През 1909 г. немският химик, лекар и имунолог Паул Ерлих поставя основите на антимикробната химиотерапия, създавайки препарата салварзан за лечение на сифилис. Близко 20 год. по-късно Флеминг прави епохалното откритие за пеницилина, за което и двамата получават Нобелова награда за физиология и медицина. Според данни на СЗО въвеждането на антибиотици в медицинската практика заедно с активната ваксинапрофилактика са причина за удължаване на средната продължителност на живот с 20 години. Активната им употреба започва едва след края на Втората световна война. Удивително е как само за период от 70 години тези доказали се антимикробни средства, драстично губят ефективност и резистентността към тях се превръща в глобален социален и икономически проблем. Всяка година Европейският съюз изразходва 1 500 000 000 евро за борба с полирезистентни инфекции [59]. Приложението на карбапенеми и резистентността, която клинично значими болнични изолати като *Acinetobacter* и *Pseudomonas* проявяват към тях, изискват не само разбиране на механизмите на тази резистентност, но и целенасоченото ѝ проучване в динамика, както и разработването на стратегии за нейното ограничаване.

### Библиография

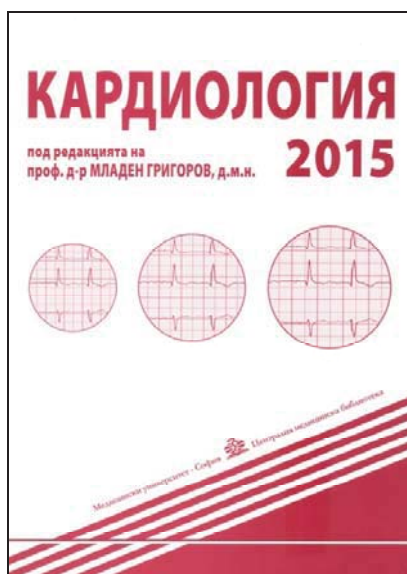
1. Вачева-Добревска, Р., И. Иванов, Н. Гачева, Е. Георгиева, П. Стаматова, К. Цанкова, Д. Георгиева, Г. Матов, Р. Филипова, Т. Кантарджиев. Клинико-епидемиологично проучване на взрив с причинител *Acinetobacter baumannii* в многопрофилна болница за активно лечение; Нозокомиални инфекции 2012, Том 9, № 1-2:90-100.
2. Петрова, А., И. Станимирова, М. Мирчева, М. Петров, В. Кърджева, М. Мурджева PCR анализ на карбапенемната резистентност при грам негативни неферментативни изолати от университетската болница „Св. Георги“, Пловдив; Юбилейна научна конференция „70 години
3. Стоева, Т. Микробиологични и молекулно-генетични изследвания върху епидемиологията и резистентността към антимикробни средства в клинични изолати *A. baumannii*. Дис., МУ Варна, 2009, 60 стр.
4. Стратева, Т., Б. Маркова, Я. Мартева-Проевска, Д. Иванова, И. Митов. Десети Национален конгрес по клинична микробиология и инфекции на Българската асоциация на микробиолозите, Пловдив 2012, Сборник с резюмета, Том 28:38.
5. American Thoracic Society, Infectious Diseases Society of America. Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia; Am J Respir Crit Care Med 2005, No 171: 388-416.
6. Bardakc, F. Random. Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. Turk J Biol 2001, Vol 25: 185-196.
7. Bergès, L. et al. Prospective evaluation of imipenem/EDTA combined disc and Etest for detection of metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*; J Antimicrob Chemother 2007, Vol 59, No 4: 812-813.
8. Birnbaum, J. et al. Carbapenems, a new class of beta-lactam antibiotics. Discovery and development of imipenem/cilastatin; Am J Med 1985, Vol 78, No 6A: 3-21.
9. Branko, J. et al. Emergence of VIM-2 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a paediatric hospital in Serbia; J Med Microbiol 2011, Vol 60, No 6: 868-869.
10. Brigante G. et al. Emergence and spread of a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clone producing both the carbapenemase OXA-23 and the 16S rRNA methylase ArmA. J Med Microbiol 2012, Vol 61, No Pt 5: 653-661.
11. Brink, A. J. et al. Appropriate Use of the Carbapenems; SAMJ 2004, Vol 94, No 10: 857-861.
12. Bush, K. et G. A. Jacoby. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother 2010, Vol 54, No 3: 969-976.
13. Coelho, J. M. et al. Occurrence of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clones at multiple hospitals in London and Southeast England; J Clin Microbiol 2006, No 44: 3623-3627.
14. Del Mar, T. M. et al. Hospital outbreak caused by a carbapenem-resistant strain of *Acinetobacter baumannii*: patient prognosis and risk-factors for colonisation and infection. Clin Microbiol Infec 2005, Vol. 11, No 7: 540-546.
15. Doebbeling, B. N. et al. Comparative efficacy of alternative hand-washing agents in reducing nosocomial infections in ICU. N Engl J Med 1992, Vol 327, No 2: 88-93.
16. Gaddy, J. et al. The *Acinetobacter baumannii* 19606 OmpA Protein Plays a Role in Biofilm Formation on Abiotic Surfaces and in the Interaction of This Pathogen with Eukaryotic Cells. Infect Immun 2009, Vol 77, No 8: 3150-3160.
17. Hilf, M. et al. Antibiotic therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. Am J Med 1989; No 87: 540-546.
18. Hujer, K. M. et al. Analysis of Antibiotic Resistance Genes in Multidrug-Resistant *Acinetobacter* Sp. Isolates from Military and Civilian Patients Treated at the Walter Reed Army Medical Center. Antimicrob Agents Chemother 2006, Vol 50, No 12: 4114-4123.
19. Kiffer, C. R. et al. Pharmacodynamic comparisons of antimicrobials against nosocomial isolates of *Escherichia*



- coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* from the MYSTIC surveillance program: the OPTAMA Program, South America 2002. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004, Vol 49: 109-116.
20. Lee, K. et al. Evaluation of the Hodge test and the imipenem-EDTA double-disk synergy test for differentiating metallo-beta-lactamase-producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2003, Vol 41, No 10: 4623-4629.
  21. Lee, K. et al. Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect* 2001, Vol 7, No 2: 88-102.
  22. Lepšanić, Z. et al. Characterisation of the first VIM metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Serbia. *Acta Microbiol Immunol Hung* 2008, Vol 55, No 4: 447-454.
  23. Lolans, K. et al. Multicity outbreak of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates producing the carbapenemase OXA-40. *Antimicrob Agents Chemother* 2006, No 50: 2941-2945.
  24. Lopez-Otsoa, F. et al. Endemic Carbapenem Resistance Associated with OXA-40 Carbapenemase among *Acinetobacter baumannii* Isolates from a Hospital in Northern Spain. *J Clin. Microbiol* 2002 Vol. 40, No 12: 4741-4743.
  25. Ma, D. et al. Molecular cloning and characterization of *acrA* and *acrE* genes of *Escherichia coli*; *J Bacteriol* 1993, Vol 175, No 19: 6299-6313.
  26. Manikal, V. M. et al. Endemic carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in Brooklyn, New York: citywide prevalence, interinstitutional spread, and relation to antibiotic usage. *Clin Infect Dis* 2000; Vol 31, No 1: 101-106.
  27. Mavroidia, A. et al. Carbapenem-hydrolysing VIM-2 metallo- $\beta$ -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Greece. *J Antimicrob Chemother* 2000, Vol 46, No 6: 1041-1043.
  28. Mereuță, A. I. et al. Detection of metallo-beta-lactamases in gram-negative bacilli isolated in hospitals from Romania – research fellowship report. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol* 2007, Vol 52, No 1-2: 45-49.
  29. Munoz-Price, S. et R. Weinstein. Current Concepts – *Acinetobacter* Infection. *N Engl J Med* 2008, No 358: 1271-1281.
  30. Naas, T. et al. VEB-1 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg Infect Dis* 2006, No 12: 1214-1222.
  31. Ozgumus, O. B. et al. Molecular epidemiology of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolates carrying IMP-1 metallo-beta-lactamase gene in a University Hospital in Turkey. *Microb Drug Resist* 2007, Vol 13, No 3: 191-198.
  32. Paterson, D. L. The epidemiological profile of infections with multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *Clin Infect Dis* 2006, No 43: suppl 2:S43-S48.
  33. Paton, R. et al. ARI-1: beta-lactamase mediated imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Int J Antimicrob Agents* 1993, Vol 2, No 2: 81-88.
  34. Pasteran, F. et al. Sensitive and Specific Modified Hodge Test for KPC and Metallo-Beta-Lactamase Detection in *Pseudomonas aeruginosa* by Use of a Novel Indicator Strain, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603. *J Clin Microbiol* 2011, Vol 49, No. 12: 4301-4303.
  35. Petrova, A., I. Stanimirova, M. Mircheva, M. Petrov, V. Kardjeva, M. Murdjeva. First PCR detection of carbapenemase encoding genes in non-fermentative clinical isolates from University Hospital “St. George” – Plovdiv – 5th Congress of Macedonian Microbiologist, Ohrid, 2014, Book of abstracts suppl. 86:117 (abstract).
  36. Poirel, L. et al. VIM-5 metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas putida* from Turkey. *Int J Antimicrob Agents* 2008, Vol 33, No 3: 287.
  37. Poirel, L., P. Nordmann. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect* 2006, Vol 12, No 9: 826-836.
  38. Poole, K. et al. Multiple antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Evidence for involvement of an efflux operon. *J Bacteriol* 1993, No 175: 7363-7372.
  39. Quale, J. et al. Interplay of Efflux system, ampC and oprD expression in carbapenem resistance of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 2006, Vol 50, No 5: 1633-1641.
  40. Quale, J. et al. Molecular Epidemiology and Mechanisms of Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Endemic in New York City. *Clin Infect Dis* 2003, Vol 37, No 2: 214-220.
  41. Queenan, A. M. et K. Bush. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev* 2007, Vol 20, No 3: 440-458.
  42. Renata, C. et al. Metallo- $\beta$ -Lactamase Detection: Comparative Evaluation of Double-Disk Synergy versus Combined Disk Tests for IMP-, GIM-, SIM-, SPM-, or VIM-Producing Isolates. *J Clin Microbiol* 2008, Vol 46, No 6: 2028-2037.
  43. Sandora, J. T. et D. A. Goldmann. Preventing Lethal Hospital Outbreaks of Antibiotic-Resistant Bacteria. *N Engl J Med* 2012, Vol 367, No 23: 2168-2170.
  44. Schneider I. et al. VIM-15 and VIM-16, two new VIM-2-like metallo- $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Bulgaria and Germany. *Antimicrob Agents Chemother* 2008, Vol 52, No 8: 2977-2979.
  45. Shah, P. M., R. D. Isaacs. Ertapenem, the first of a new group of carbapenems. *J Antimicrob Chemother* 2003, Vol 52: 538-542.
  46. Stoeva, T. et al. Clonal spread of carbapenem-resistant OXA-23-positive *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian university hospital. *Clin Microbiol Infect* 2008, Vol 14, No 7: 723-727.
  47. Stoeva, T. et al. Nosocomial spread of OXA-23 and OXA-58 $\beta$ -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a Bulgarian hospital. *J Antimicrob Chemother* 2009, Vol 63, No 3: 618-620.
  48. Todorova, B., T. Velinov, I. Ivanov, E. Dobrova, T. Kantardjiev. First detection of OXA-24 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* isolates in Bulgaria. *World J Microbiol Biotechnol*, 2013, Vol 30, No 4:1427-1430
  49. Tsakris, A. et al. Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. *J Clin Microbiol* 2000, Vol 38, No 3: 1290-1292.
  50. Turton, J. F. et al. The role of ISAbal1 in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Microbiol Lett* 2006, Vol 258, No 1: 72-77.
  51. Turner, P. J. Susceptibility of meropenem and comparators tested against 30,634 *Enterobacteriaceae* isolated in the

- MYSTIC Programme (1997-2003). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004, Vol 50: 291-293.
52. Turner, P. J. Trends in antimicrobial susceptibilities among bacterial pathogens isolated from patients hospitalized in European medical centers: 6-year report of the MYSTIC Surveillance Study (1997-2002). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005, Vol 51: 281-289.
53. Vacheva-Dobrevska, R., X. Mulet, I. Ivanov, L. Zamorano, E. Dobрева, T. Velinov, T. Kantardjiev, A. Oliver. Molecular epidemiology and multidrug resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Bulgarian hospitals. *Microbial Drug Resistance* 2013, Vol 19, No 5: 355-361.
54. Vatcheva-Dobrevski, R., P. G. Higgins, I. Ivanov, M. Lesseva, E. Kueyleyan, M. Sredkova, H. Hitkova, E. Dobрева, I. Haydouchka, E. Savov, V. Dicheva, E. Nedyalkova, T. Kantardjiev, H. Seifert, L. Dijkshorn. Development of carbapenem resistance, molecular characterization and clonal spread of *Acinetobacter baumannii* in Bulgarian hospitals. ECCMID, Copenhagen, 2015 (abstract).
55. Walsh, T. R. et al. Evaluation of a new Etest for detecting metallo-beta-lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002, No 40: 2755-2759.
56. Yong, D. et al. Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol* 2002, Vol 40: 3798-4380.
57. Zhanel, G. G. et al. Comparative review of the carbapenems. *J A Drugs* 2007, Vol 67, No 7: 1027-1052.
58. Zhiyong, Z., Lu Xiaoju et GaoYanyu. Metallo-beta-lactamases of non-fermenting Gram-negative bacteria. *Rev Med Microbiol* 2003, Vol 14:79-93.
59. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2012/infographic-what-you-need-to-know-about-antibiotic-resistance-download>

Постъпил за печат на 5 октомври 2015 г.



## КАРДИОЛОГИЯ 2015

Под ред. на  
проф. д-р Мл. Григоров, дмн

Първо издание  
ЦМБ, МУ – София, 516 с.

НАЙ-ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ ПОНЯТИЯ В КАРДИОЛОГИЯТА  
СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ НА ОСНОВНИТЕ АНАТОМИЧНИ ЕЛЕМЕНТИ  
НА МИОКАРДА  
КРАТКА ФИЗИОЛОГИЯ НА КРЪВООБРАЩЕНИЕТО  
ПАТОФИЗИОЛОГИЯ НА ОСНОВНИТЕ СИМПТОМИ В  
КАРДИОЛОГИЯТА  
ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА НА ГРЪДНАТА БОЛКА  
ПРИНЦИПИ НА СЪРДЕЧНАТА МОЛЕКУЛЯРНА БИОЛОГИЯ И  
ГЕНЕТИКА  
МЕТАБОЛИЗЪМ И ИСХЕМИЯ  
ЕПИДЕМИОЛОГИЯ И РИСКОВИ ФАКТОРИ ЗА СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ  
ЗАБОЛЯВАНИЯ  
АНАМНЕЗА И ФИЗИКАЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА СЪРДЕЧНО БОЛНИ  
ОБРАЗНИ МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ  
НУКЛЕАРНА КАРДИОЛОГИЯ  
ИНВАЗИВНИ МЕТОДИ В КАРДИОЛОГИЯТА  
МОНИТОРИРАНЕ НА ОСНОВНИ ХЕМОДИНАМИЧНИ ПАРАМЕТРИ  
СЪРДЕЧНА НЕДОСТАТЪЧНОСТ  
АРТЕРИАЛНА ХИПЕРТОНИЯ  
ИСХЕМИЧНА БОЛЕСТ НА СЪРЦЕТО (КОРОНАРНА БОЛЕСТ)  
РИТЪМНИ И ПРОВОДНИ НАРУШЕНИЯ  
СЪРДЕЧНА СТИМУЛАЦИЯ И ДИВАЙС ТЕРАПИЯ  
СИНКОП  
СЪРДЕЧЕН АРЕСТ. КАРДИО-ПУЛМОНАЛНА РЕСУСЦИТАЦИЯ  
ВЪЗПАЛИТЕЛНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА СЪРЦЕТО  
КАРДИОМИОПАТИИ  
ВРОДЕНИ СЪРДЕЧНИ МАЛФОРМАЦИИ  
ПРИДОБИТИ КЛАПНИ СЪРДЕЧНИ ПОРОЦИ  
БОЛЕСТИ НА КРЪВОНОСНИТЕ СЪДОВЕ  
ТУМОРИ НА СЪРЦЕТО  
ОЦЕНКА НА СЪРДЕЧНИЯ РИСК ПРИ НЕСЪРДЕЧНА ХИРУРГИЯ.  
БРЕМЕННОСТ И СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ  
РЕХАБИЛИТАЦИЯ ПРИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА СЪРДЕЧНО-СЪДОВАТА  
СИСТЕМА  
СЪРЦЕ И СПОРТ  
ОЦЕНКА НА ЗДРАВНИТЕ ТЕХНОЛОГИИ В КАРДИОЛОГИЯТА

Написана от голям авторски колектив (близо 30 автори) и посветена на покойните създатели на българската кардиологична школа, книгата е предназначена за кардиолози, интернисти и други медицински специалисти, за специалисти и студенти.