

Антимикробная резистентность микроорганизмов как проблема современной педиатрии

Общеизвестно, что антимикробные препараты являются единственным классом лекарственных средств, активность которых в человеческой популяции со временем снижается. Кроме естественных факторов, растущей резистентности микроорганизмов к противомикробным препаратам способствует нерациональное их использование в медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности.

→ Еще в 2001 г. Всемирная организация здравоохранения разработала Глобальную стратегию по сдерживанию резистентности к противомикробным препаратам (WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2), а в 2011 г. именно эту проблему объявила темой Всемирного дня здоровья.

Устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП) может быть природной и приобретенной. Истинная природная устойчивость характеризуется отсутствием у микроорганизмов мишени действия антибиотика или ее недоступностью вследствие первично низкой проницаемости либо ферментативной инактивации. Под приобретенной устойчивостью понимают свойство отдельных штаммов бактерий сохранять жизнеспособность при тех концентрациях АБП, которые подавляют основную часть микробной популяции.

Важное значение имеют такие механизмы устойчивости, как изменение проницаемости клеточной стенки бактерии, при которых ограничивается поступление АБП к мишени; модификация мишени антибиотика;

активное его выведение из микробной клетки – эффлюкс; ферментная модификация АБП; разрушение антимикробного агента; приобретение альтернативных метаболических путей для ингибирования препарата и др. (Gigris et al., 2009; А.Н.А.М. van Noek et al., 2011). Особенно следует выделить способность бактерий к формированию микробных биопленок, которые благодаря наличию внеклеточного матрикса, частично изолирующего их от окружающей микросреды, имеют устойчивость к АБП в 100-1000 раз выше, чем свободно плавающий микробный планктон.

Особенно хорошо изучены механизмы устойчивости микроорганизмов к β -лактамам при их ферментативной инактивации в результате гидролиза одной из связей β -лактаманного кольца β -лактамазами. При этом возникновение антибиотикорезистентности среди возбудителей заболеваний дыхательных путей значительно усложняет лечение данной патологии у детей.

Известно, что антибиотикорезистентность среди бактерий развивается вследствие активного обмена



С.П. Кривоустов

Д.м.н., профессор кафедры педиатрии № 2 Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, г. Киев

информацией с помощью мобильных генетических элементов и негенетических факторов (G. Tsafnat et al., 2011; O.M. El-Halfawy et al., 2012 и др.).

Описаны 2 типа мобильных генетических элементов: элементы, которые могут самостоятельно перемещаться между бактериями (конъюгативные плазмиды и транспозоны), и элементы, передвигающиеся

в пределах бактериальной клетки (по хромосоме, от хромосомы к плазмиде и наоборот: транспозоны, интегроны, включающие генные кассеты, др.). Плазмиды и конъюгативные транспозоны являются своеобразной платформой, на которой посредством различных рекомбинационных систем бактериальной клетки происходят сборка и сортировка генов антибиотикорезистентности. Отдельные транспозоны включают гены антибиотикорезистентности, различающиеся между собой по структуре, происхождению и механизмам транспозиции (M.V. Supotnitskiy, 2011).

Хорошо известно, что, кроме генов в хромосомной ДНК, бактерии могут иметь в цитоплазме плазмиды – небольшие внехромосомные наборы генов, кольцевидные двухцепочечные молекулы ДНК. Бактериальные интегроны представляют собой генные системы, которые вместо транспозиции (как это делают транспозоны) для распространения по геному бактерии используют сайтспецифическую рекомбинацию. Интегроны включают специальную рекомбинационную систему, кодирующую фермент интегразу, который осуществляет сайтспецифическую рекомбинацию, и сайт, в котором находится короткая последовательность ДНК – генная кассета (G.D. Recchia, R.M. Hall, 1995 и др.).

Часто отмечают изменения проницаемости клеточной стенки, что связано со снижением экспрессии поринов на наружной мембране, необходимых для проникновения антибиотиков, либо трансмембранного электрического потенциала бактерий. Характеризуя активный отток АБП из клетки, следует помнить, что он характерен как для грампозитивных, так и для грамотрицательных бактерий и осуществляется с помощью насосов бактериальной стенки. Некоторые насосы откачивают конкретный вид антибиотика, другие являются более универсальными; в частности,

описан регулятор *MagA* (A.K. Bhardwaj et al., 2012).

Возможна модификация мишени АБП. Например, мутационные изменения в рибосомных белках или ферментативное метилирование рРНК позволяют изменить мишень для связывания с аминогликозидами (S.B. Vakulenko et al., 2003). Известны также механизмы резистентности к макролидам, которые подавляют синтез бактериального белка, связываясь с 50S субъединицей рибосомы. Метилирование аденина предотвращает связывание с мишенью, и на данный момент известны более 60 генов, регулирующих указанный процесс. С помощью того же механизма бактерии приобретают устойчивость к гликопептидам (A.H.A.M. van Hoek et al., 2011).

Ферментная модификация антибиотика хорошо изучена на примере аминогликозидов. Основным способом выработки устойчивости к ним является ферментативная модификация amino- и гидроксильных групп АБП. Выделяют 3 группы ферментов: фосфотрансферазы (АРН), ацетилтрансферазы (ААС) и нуклеотидилтрансферазы (АНТ).

Фосфотрансферазы при наличии АТФ способны к фосфорилированию гидроксильных групп антибиотиков, после чего препарат утрачивает антибактериальную активность. Гены, кодирующие этот фермент, идентифицированы как у грамотрицательных (например, *клебсиеллы*), так и у грамположительных возбудителей (например, золотистого стафилококка). Ацетилтрансферазы используют в качестве донора ацетильной группы ацетилкоэнзим А, а гены ААС наиболее распространены среди грамотрицательных бактерий. Нуклеотидилтрансферазы также используют АТФ в качестве субстрата и модифицируют аминогликозиды путем присоединения АМФ к гидроксильным группам. Различные ферменты модифицируют различные амингликозиды, показана

связь между распространенностью соответствующих аминогликозидомодифицирующих ферментов и наиболее широко используемыми препаратами (S.B. Vakulenko et al., 2003).

Ярким примером является выработка β -лактамаз. К β -лактамам АБП относятся пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы. Механизм их действия основан на ингибировании синтеза клеточной стенки. Они взаимодействуют с пенициллинсвязывающими белками и вмешиваются в структурную связь пептидогликанов, нарушая целостность стенки бактерии и приводя к цитолизу в результате осмотического давления (A.H.A.M. van Hoek et al., 2011). Выделяют серинсодержащие β -лактамазы и металлоферменты с ионами цинка в качестве кофактора.

По молекулярной структуре выделяют β -лактамазы А, В, С, D. Их распространение чаще всего обеспечивается благодаря плазмидам, однако некоторые гены могут локализоваться и в бактериальных хромосомах. Гены, кодирующие новые лактамазы, находятся в интегронах, в которых встречаются гены, несущие устойчивость к другим антибиотикам; некоторые гены переносятся с помощью транспозонов. Наиболее распространенными β -лактамазами считаются ESBLs (расширенного спектра действия, *extended spectrum β -lactamases*), а также SHV и CTX-M (G.A. Jacoby et al., 2005). В качестве примера ферментативной деструкции также можно привести разрушение хлорамфеникола хлорамфениколтрансферазами.

Устойчивость к антибиотикам среди различных микроорганизмов зависит от частоты использования АБП в популяции, применяемых стандартов лечения. Так, растет устойчивость к карбапенемам: в частности, *Klebsiella pneumoniae* продуцирует карбапенемазы. При чрезмерном использовании антибиотиков неуклонно идет отбор

устойчивых к ним штаммов. Растет количество продуцируемых лактамаз, причем не существует β -лактамов, к которым еще не выработалась резистентность (S.B. Vakulenko et al., 2003; G.A. Jacoby et al., 2005).

Особенно следует подчеркнуть значимость для клиники MRSA (метициллинрезистентных штаммов *Staphylococcus aureus*) и VRE (ванкомицинрезистентных штаммов энтерококков). Остаются актуальными вопросы устойчивости *Streptococcus pneumoniae* к пенициллину и макролидам, *Escherichia coli* – к аминогликозидам, проблемы продукции β -лактамаз расширенного спектра *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. и др., полирезистентности *Pseudomonas aeruginosa* и др.

D. Hocquet и соавт. (2012) проанализировали конкретный случай развития резистентности *P. aeruginosa* в клинике. Используя методы генетической инженерии, путем вставки *gscF1* в интегрон, кодирующий широкий спектр β -лактамаз, авторы пришли к выводу, что устойчивость была приобретена в результате SOS-реакции (механизма репарации поврежденной ДНК), а провокатором стал стартовый препарат метронидазол, использующийся у данного пациента и не имеющий активности против *P. aeruginosa*. Более того, авторы указывают на быстрое распространение этой устойчивости среди пациентов клиники.

Приобретение бактериями устойчивости к АБП в отсутствие генетических изменений называется внутренней резистентностью. Бактерии обладают способностью обмена химическими сигналами с помощью сигнальных молекул (O.M. El-Halfawy et al., 2012). Они необходимы бактериальной популяции для контроля над плотностью заселения, модуляции экспрессии генов в ответ на внешние факторы (R.P. Ryan et al., 2008). Их выработка зависит от типа бактерии, стадии

роста, внешних стимулов. Ярким примером является N-ацетил-гомосеринлактон (N-AHL), который продуцируется грамотрицательными бактериями и регулирует различные функции, в том числе образование биопленки. Другой пример – индол, вырабатываемый бактериями, при выделении которого развивается антибиотикорезистентность на популяционном уровне: в случае воздействия антибиотика резистентные бактерии «защищают» чувствительные, образуя биопленку.

Чрезвычайно важно, что в качестве межвидовых сигнальных молекул могут выступать некоторые АБП в субингибиторных концентрациях, что приводит к развитию устойчивости, в том числе путем образования биопленок. В целом терапевтические ошибки значительно влияют на рост резистентности, особенно нарушение режима дозирования, при котором в промежутках между введениями концентрация препарата ниже, чем минимальная ингибирующая. Именно рациональное применение АБП является основным средством сдерживания повышающейся антибиотикорезистентности микроорганизмов. Важно использовать современные стандарты антимикробной терапии, базирующиеся на данных доказательной медицины. Недопустимо профилактическое использование антибиотиков при вирусных инфекциях.

Понимание молекулярных основ резистентности является обязательным условием разработки новых АБП. Однако, как показывает обзор баз данных Adis Insight R&D и PharmaProjects, в котором учитывались новейшие антимикробные агенты, находящиеся в стадии разработки, из 167 антибиотиков только 27 имеют иной механизм действия либо новую цель, что наделяет их преимуществом перед уже используемыми в клинической практике препаратами. Из них только 15 можно применять системно, но при этом лишь

8 действуют на такие значимые микроорганизмы, как *S. aureus*, *Enterococcus faecium*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* (European Centre for Disease Prevention and Control / European Medicines Agency, 2009).

Педиатрам и семейным врачам важны слова профессора J.P. Guggenbichler (Германия), прозвучавшие на XIV Сидельниковских чтениях «Актуальные вопросы педиатрии» (12-14 сентября, г. Судак): «Появления новых антибиотиков в обозримом будущем ожидать не стоит». Для амбулаторной педиатрии представляют интерес научные работы профессора J.P. Guggenbichler (2001, 2007), в которых изучался механизм развития устойчивости возбудителей инфекции дыхательных путей к макролидам, – активное откачивание антибиотика из клетки, которое может быть результатом субингибирующей концентрации препарата, изменения рибосомальных рецепторов, в связи с чем АБП не может связаться с мишенью.

К сожалению, разрыв во времени между выработкой устойчивости к АБП бактерий и созданием новых антибиотиков приближает нас к доантибиотической эре. Клиницистам крайне необходимо рационально использовать имеющийся арсенал АБП, максимально заботясь о сдерживании роста резистентности микроорганизмов к этим средствам. По мнению профессора J.P. Guggenbichler, наиболее ярким примером нерациональной антибиотикотерапии является применение АБП для профилактики бактериальных осложнений ОРВИ с учетом отсутствия влияния на вирусы и бактерии, организованные в биопленки (при хронических заболеваниях), ограниченной профилактической эффективности, нарушения состава нормальной микрофлоры человека, негативного воздействия на организм (угнетение иммунной реактивности, побочные реакции и т. д.). Для устранения этого фактора рациональнее

воздействовать на другие механизмы развития бактериальной суперинфекции после ОРВИ. Необходимо вспомнить, что в ее основе лежит влияние вирусной инфекции на неспецифические механизмы защиты: нарушение мукоцилиарного транспорта и замедление линейной скорости секрета дыхательных путей, снижение концентрации антимикробных субстанций в секрете, а также первичная воспалительная реакция. Все это создает благоприятные условия для адгезии бактериальной микрофлоры на слизистой оболочке и предпосылки к возникновению нового инфекционного процесса бактериальной этиологии. По этой причине важной мерой предупреждения бактериальных осложнений являются поддержание природных механизмов неспецифической защиты: обеспечение нормального мукоцилиарного транспорта, стимуляция неспецифической иммунной резистентности, подавление воспаления, а также активация секреции антимикробных субстанций.

Кроме того, взгляды исследователей обращены в сторону поиска альтернативы антибиотикам. Например, активно изучаются антимикробные пептиды: дефензины, кателицидины, гистатины.

Дефензины – это катионные пептиды длиной 30-42 аминокислот и трехнитевой β -пластинчатой структуры, содержащей 3 дисульфидные связи (S. Yoshioka et al., 2007). Основным депо α -дефензинов в организме являются нейтрофилы, они участвуют в кислороднезависимом фагоцитозе. Два других представителя семейства α -дефензинов (HD) экспрессируются интестинальными клетками Панета, некоторыми эпителиальными клетками двенадцатиперстной кишки (S. Yanagi et al., 2007). β -Дефензины производятся в эпителии слизистых во всех отделах желудочно-кишечного тракта, в поджелудочной и слюнных железах, коже и некоторых лейкоцитах. Возможно, некоторые

пробиотические бактерии тоже продуцируют β -дефензины. β -Дефензин 1 экспрессируется конститутивно, а β -дефензин 2 и 3 индуцибельны в ответ на действие провоспалительных цитокинов, микроорганизмов (S. Yoshioka et al., 2007).

Кателицидины – это катионные пептиды разнообразной линейной, α -спиральной или β -шпилькообразной структуры в пероксидаза-отрицательных гранулах нейтрофилов (D. Desai et al., 2007). У человека имеется только один предшественник кателицидинов – hCAP18, который производится в основном в лейкоцитах и эпителиальных клетках. Кателицидины проявляют активность против грамотрицательных и грамположительных бактерий, характеризуются синергизмом антибактериального действия с дефензинами (М.Г. Ильяшенко и соавт., 2012 и др.).

Кальпротектин высвобождается из нейтрофилов и тканевых макрофагов во время их активации или гибели и вовлекается в активный воспалительный процесс. Он составляет до 60% от внутриклеточной жидкости в нейтрофилах, обладает противомикробными свойствами (A. El-Badry et al., 2007).

Конечно, антимикробные пептиды уступают АБП по эффективности, но спектр их действия шире и распространяется на бактерии, устойчивые к известным антибиотикам (B. Spellberg, 2008). Однако применять в клинике можно только те пептиды, которые не разрушают клетки самого макроорганизма. К сожалению, большинство природных пептидов обладают некоторым гемолитическим действием, разрушая человеческие эритроциты (P. Hamill, 2008).

Сегодня, как и много лет тому назад, особый интерес представляют фитотерапевтические средства, обладающие антимикробной активностью, высоким профилем безопасности, активизирующие неспецифические

защитные механизмы организма, направленные против колонизации слизистых оболочек.

Так, в основе антибактериального действия экстракта тимьяна лежат свойства тимола. К нему чувствительны *S. pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *K. pneumoniae* и др. Известен антибактериальный эффект такого составляющего вещества плюща, как фалкаринол. Антимикробное действие иридоидного гликозида вербены вербеналина потенцируется компонентами первоцвета. При этом не формируется резистентность патогенных микроорганизмов и отсутствует негативное воздействие на сапрофитную микрофлору кишечника. Помимо влияния на бактериальных возбудителей, за счет комплексного воздействия лекарственных растения могут выступать в роли мощных реактиваторов мукоцилиарного транспорта, средств, подавляющих воспалительную реакцию и повышающих неспецифическую иммунологическую реактивность. С этой точки зрения большой практический интерес представляют, например, первоцвет, горчавка, бузина, вербена, шавель (или готовый специальный экстракт из композиции данных лекарственных растений), тимьян, плющ.

Проверенные веками возможности лекарственных растений в сочетании с самыми современными достижениями науки и техники целесообразно использовать в широкой практике амбулаторной и стационарной педиатрии. Это, в частности, является важным инструментом сдерживания роста резистентности микроорганизмов к АБП.

В целом же развитие мультирезистентных штаммов является актуальной проблемой человечества, которая требует принятия адекватных мер в глобальном масштабе (Бюллетень ВОЗ, 2011). ■

Список литературы находится в редакции.