

# Бактериальная резистентность: катастрофа, которая касается каждого

**Угроза стремительного распространения антибактериальной резистентности перестала быть проблемой будущего. Растущая устойчивость микроорганизмов наносит вред здоровью и жизни каждого человека уже сегодня. Невозможность полного отказа от антибактериальной терапии (АБТ), с одной стороны, и исключения вероятности инфекционных заболеваний, с другой, обуславливает необходимость поиска альтернативных способов борьбы с резистентностью.**

В 2009 г. трагедия, случившаяся с 9-летним мальчиком, потрясла весь мир. Брок Уэйд всего лишь поцарапал ногу при падении с самоката. Сепсис был вызван устойчивым к метициллину *Staphylococcus aureus* (MRSA). Для спасения жизни ребенку была проведена терапия 5 различными антибактериальными препаратами. После серии оперативных вмешательств и стационарного лечения в течение 1 мес ребенок вернулся домой. Ситуации, подобные этой, случаются все чаще, однако не всем из тысяч пациентов – носителей резистентных штаммов микроорганизмов везет, как Брок Уэйд.

Несмотря на то что резистентные бактерии живут вокруг нас долгое время, сегодня их устойчивость отличается от той, что была еще 10 лет назад. Результатом долгого отсутствия международных директив и стратегий на фоне масштабного сокращения разработок в области противомикробных препаратов стало появление новых типов устойчивости.

Национальные институты здоровья США в 2011 г. сообщили о 18 случаях инфицирования полирезистентными штаммами, 6 из которых закончились летальным исходом. Это свидетельствует о том, что малая хирургия и рутинные операции становятся процедурами высокого риска. Банальное бытовое повреждение может представлять серьезную угрозу жизни. Устойчивые к антибиотикам инфекции могут убивать даже в самых современных медицинских центрах мира.

Спустя без малого 100 лет после открытия первого антибиотика, пришло время новым взглядом посмотреть на тех, против кого мы «воюем». Микробы имели в запасе 3,5 млрд лет, чтобы адаптироваться к различной среде обитания, и теперь способны выживать в самых сложных климатических условиях, приспосабливаясь к крайне высоким и низким температурам, перепадам давления и кислотности, гипоксии и полному отсутствию солнечного света. Движущие силы микробной адаптивности – генетическая пластичность и быстрые репликации.

**!** Следует понимать, что люди не изобрели антибиотики – они их обнаружили. Для микроорганизмов антибиотики играют роль сигнальных молекул, с помощью которых происходит обмен информацией между

колониями, контролируется популяционная плотность. Антибактериальные средства были и остаются элементами координации поведения бактерий в отношении изменяющихся условий внешней среды, наблюдения за другими коммуникативными сообществами.

Генетический анализ метаболических путей показывает, что бактерии изобрели не только антибиотики, например β-лактамы, но и β-лактамазные ферменты, чтобы противостоять все тем же антибиотикам, еще более 2 млрд лет назад. Резистентность как генетически детерминированное и коллективное свойство микроорганизмов далеко не нова и возникла задолго до появления человека. Обнаруженные в бактериях, законсервированных в вечной мерзлоте, закрытых подземных полостях, нефти, океанских термальных источниках, R-гены (гены резистентности) подтверждают ее древнее происхождение.

Выделяют истинную, или первичную, и приобретенную (вторичную) резистентность. Первичная устойчивость является хромосомно-опосредованной, не передается другим бактериям, имеется у всех штаммов конкретного рода или вида и ограничивает спектр активности конкретного антибиотика. Приобретенная резистентность возникает только у некоторых бактерий конкретного рода или вида. В ее основе лежат механизмы мутаций конституциональных генов (в этом случае передача гена резистентности не происходит), а также механизмы приобретения экзогенных детерминант устойчивости от других микроорганизмов путем горизонтального переноса генов (в этом случае возможна дальнейшая передача гена). Основными переносчиками R-генов (еще в 2000 г. их выделяли около 20 тыс.), являются плазмиды (6 видов) и конъюгативные транспозоны, окончательное число которых не известно.

В реализации программы антибиотикорезистентности плазмиды и конъюгативные транспозоны выполняют функцию генетических платформ, на которых посредством рекомбинационных систем бактерий происходит сборка и сортировка генов устойчивости. Реализация биохимических путей резистентности осуществляется такими механизмами, как модификация мишени действия, инактивация антибиотика,

активное выведение антибиотика из микробной клетки (эффлюкс), изменение проницаемости внешних структур микробной клетки, формирование метаболического «шунта».

В настоящий момент усилия научного сообщества сосредоточены на дорасшифровке и оценке значения горизонтального переноса генов устойчивости, а также различных мутационных событий, отвечающих за продолжающееся становление генома бактерий.

Обобщая имеющуюся информацию об антибактериальной устойчивости бактерий, можно сделать следующий вывод. Эволюционная система «Антибиотик – бактерия – бактериальная резистентность» – сбалансированный инструмент прогресса микромира, который формировался в течение многих миллионов лет. Однако после открытия человеком антибактериальных средств этот баланс был нарушен. Постоянный рост потребления антибиотиков спровоцировал скачок в развитии различных механизмов бактериальной резистентности, способствовал ее широкому и быстрому распространению в мире микроорганизмов.

Ошибочно полагать, что угроза стремительной экспансии антибактериальной резистентности – проблема будущего. Постоянно растущая устойчивость микроорганизмов наносит вред здоровью и жизни каждого человека уже сегодня. Для борьбы с привычными инфекциями используется все более агрессивная (резервная) АБТ, увеличивается длительность лечения, возникает необходимость в использовании комбинации нескольких антибактериальных препаратов. При этом все терапевтическое внимание сосредоточено на устранении возбудителя инфекции. Тот факт, что антибиотики обладают широким спектром серьезных побочных эффектов (нейротоксичным, нефротоксичным, гепатотоксичным, сенсibiliзирующим и др.) и в целом меняют системную биологию человека, часто игнорируется.

**!** Наиболее тяжелым и долгосрочным последствием АБТ подвержена микробиота человека, а именно ее основной локус – кишечник. Кишечник – это уникальный биотоп с влажной и теплой средой, питательными веществами в изобилии, огромным количеством бактериальных клеток, которые являются генетическим

депо для функциональных генов устойчивости, образующих в совокупности связанный резистом (resistome, детерминант множественной резистентности).

Такая плотная микробная популяция представляет собой серьезный потенциал для передачи генов резистентности, в том числе и патогенным штаммам. Наиболее ранний пример такой передачи описан в 1974 г., когда в исследовании был зафиксирован момент передачи кишечной палочкой животного происхождения R-генов к тетрациклину кишечной палочке желудочно-кишечного тракта участника-добровольца.

До последнего времени считалось, что разнообразие типов антибактериальной резистентности в кишечнике человека, как правило, увеличивается с возрастом и что у представителей старших возрастных групп больше разновидностей данных генов, чем у молодого поколения. Однако в одном из последних метагеномных исследований с участием здоровых младенцев, детей и подростков показано наличие в их фекальных резистомах разнообразного массива связанных с различными мобильными элементами R-генов, которые обнаруживаются даже без недавнего селективного давления антибиотиков и готовы к дальнейшему распространению. В 2014 г. опубликованы данные о широком распространении резистентных микроорганизмов среди детей всех возрастов, особенно 1-5 летнего возраста, в связи с чем специалисты выразили серьезную озабоченность полученным результатом, который свидетельствует о существовании серьезной угрозы здоровью будущих поколений.

Несмотря на огромный поток информации, касающейся антибактериальной устойчивости, механизмы, лежащие в основе последней, неясны. Практически отсутствует информация об экспрессии генов резистентности. Для ответов на эти вопросы необходимы массовые метатранскриптомные, метапротеомные и метаболомные проекты, которые в данный момент выполняются в единичных случаях. Первое такое мультиэкономическое исследование, проведенное в 2012 г., дало оценку глобальной структуре микробных сообществ и метаболическому статусу экосистемы кишечника, в том числе динамическому характеру антибактериальной резистентности на фоне АБТ. Непосредственной целью исследования было изучение характера влияния АБТ (ампициллин/сульбактам и цефазолин) на микробиоту кишечника, и ее последствий в виде изменения обмена веществ и здоровья человека в целом. В ходе

исследования было выяснено, что с 1-х суток АБТ (с 1-го по 6-й день) бактерии для собственной защиты начинали активно вырабатывать  $\beta$ -лактамазы, антимикробные пептидные перевозчики, лекарственные эффлюксные насосы и т. д. Кроме того, пытались справиться с прерывистой подачей питательных веществ, они уменьшали производство полисахаридов и липополисахаридов. В этот же период наблюдалось видимое колебание динамики и численности грамотрицательных таксонов.

К 6-му дню АБТ отмечалось усиление экспрессии белков, необходимых для гликолиза, декарбоксилирования, цикла трикарбоновых кислот, усиления глутаматного метаболизма, поглощения железа и терминации трансляции. Подобная активация была необходима для того, чтобы справиться с прогрессирующим недостатком питательных веществ и с антибактериальным стрессом в целом. Одновременно было зарегистрировано снижение уровней экспрессии всех бактериальных генов, принадлежащих к категории «мобильные и внехромосомные элементы». Они кодируют систему иммунного ответа на вторжение чужеродной ДНК (вирусы и плазмиды), депрессия этих генов делает бактерии более чувствительными к приобретенной посторонней генетической информации, повышая вероятность получения генов устойчивости вследствие горизонтального переноса.

Бурная колонизация предполагаемыми резистентными бактериями достигала максимума к 11-му дню лечения одновременно с пиком микробного биоразнообразия и микробной насыщенности. Синхронно с серьезными проблемами колонизационной резистентности возникали нарушения в производстве микроорганизмами желчных кислот, холестерина, гормонов, витамина  $B_{12}$  и поглощении основных металлов.

Максимальный пик таксономических изменений происходил на 14-е сутки АБТ, что совпадало с периодом т. н. метаболического провала. Сокращение бактериальной численности и разнообразия (большая часть таксонов не была восстановлена к 40-му дню АБТ) имело следствием уменьшение разнообразия различных бактериальных секретов, крайне необходимых для человеческого метаболизма.

Таким образом, на фоне АБТ микробиота кишечника человека переживает антибактериальный стресс, который реализуется в 4 направлениях:

- таксономический стресс связан с уменьшением численности вплоть до полного исчезновения представителей некоторых таксонов;
- метаболический стресс предполагает усиление механизмов защиты клетки от антибактериальной интервенции (экспрессия генов резистентности); активацию синтетических функций, позволяющих пережить бактериям период недостатка питания; прекращение синтеза метаболитов, необходимых человеку;
- иммунный стресс заключается в изменении иммунного ответа бактерий на вторжение чужеродной ДНК (вирусы и плазмиды);

- модификационный стресс выражается ростом числа и количества резистентных штаммов.

АБТ, нацеленная на конкретные патогенные инфекции, оказывает влияние на глобальный метаболический статус микрофлоры кишечника, в том числе на характер ее устойчивости, провоцируя долгосрочные экологические последствия. В целом проблему антибактериальной резистентности можно рассматривать как систему, состоящую из 3 основных элементов, на которые можно влиять различными современными терапевтическими и профилактическими мероприятиями.

К сожалению, современная наука не имеет достаточных знаний и средств для прямой борьбы с механизмами резистентности в микром мире, позволяющих разорвать этот порочный круг. Именно поэтому Всемирная организация здравоохранения фокусирует усилия на поиске решений данной проблемы, в первую очередь на сокращении использования антибактериальных средств во всех сферах жизнедеятельности человека, в том числе за счет уменьшения их нецелевого использования. Так, в Финляндии уменьшение использования макролидов на 40% за 4 года привело к снижению резистентности стрептококка группы А с 16,5 до 8,6%. В Германии после прекращения использования авопакина в качестве пищевой добавки на птицефермах содержание резистентных к ванкомицину энтеробактерий в кишечной микрофлоре здоровых людей за 4 года снизилось с 12 до 3%. С другой стороны, чувствительность Enterobacteriaceae к стрептомицину не восстановилась даже через 20 лет после прекращения его клинического применения.

Между тем полностью отказаться от антибиотиков, равно как и исключить вероятность возникновения инфекционных болезней, в настоящий момент не представляется возможным. Следовательно, в тех случаях, когда имеют место абсолютные показания к проведению АБТ, рекомендуется проводить мероприятия, направленные на защиту кишечника от резистентных штаммов бактерий, а также от других последствий антибактериального стресса.

**Необходима энтеропротекторная терапия, которая способна осуществить временное протезирование разрушенного защитного микробиологического барьера с восстановлением его коммуникативной активности; максимально снизить вероятность получения генов устойчивости; способствовать восстановлению всех потерянных таксонов и репарации их метаболического потенциала; восстановить физиологическую интеграцию микробиоты кишечника и метаболизма человека.**

Логичным решением поставленных задач может стать системное использование бациллярного пробиотика Энтерожермина. Результаты полногеномного секвенирования и секретомный анализ всех белков, выделяемых бациллами на поверхность микробиоты человека, позволили доказательно объяснить клинические эффекты препарата,

получаемые на протяжении более чем 50 лет его использования в медицинской практике. Функциональной основой Энтерожермина являются *Bacillus clausii* – грамположительные факультативно-аэробные бактерии, споровые и вегетативные формы которых при попадании в желудочно-кишечный тракт человека характеризуются способностью к размножению, выживанию и, более того, стимулируют повышение метаболической активности.

Отличительная характеристика бацилл, содержащихся в Энтерожермине, – антибактериальная полирезистентность, в основе которой лежат первичные хромосомно-локализованные гены (всех четырех штаммов бацилл ОС, SIN, NR и Т) с полным отсутствием возможности их мобилизации.

Идентификация гена резистентности была осуществлена путем клонирования. Все попытки его передачи таким микроорганизмам, как представители нормальной кишечной микрофлоры *Enterococcus faecalis* или *Enterococcus faecium*, либо *B. subtilis*, являющегося филогенетически родственным видом, оказались неудачными. Штаммы *B. clausii* отнесены к категории полирезистентных. Это свойство позволяет им выживать в условиях одновременного приема любых антибиотиков.

Восстановление микробиологического барьера с помощью пробиотика Энтерожермина осуществляется благодаря способности *Bacillus clausii* занимать свободные экологические ниши на слизистых оболочках кишечника, тем самым противодействуя патогенной колонизации и максимально снижая вероятность получения генов устойчивости. Свообразная механическая защита – т. н. «бациллярная кольчуга» – предотвращает адгезию энтеропатогенных микроорганизмов по принципу конкурентного блокирования специфических локусов с дальнейшей трансформацией в метаболически активные формы. В течение 1-х суток у 90% бацилл происходят морфофункциональные изменения и метаболическая активация. Каждый бациллярный штамм начинает синхронно выделять обширный спектр белков, участвующих в различных важнейших механизмах, направленных на восстановление постантибактериальной микробиоты хозяина.

Химическая защита микробиологического барьера кишечника осуществляется путем противодействия секретов бацилл прикреплению и вторжению патогенных бактерий, в частности за счет фермента каталазы (антисептик, окислитель) и антиадгезивного лиганда флагеллина. Микробиальный антагонизм, демонстрируемый бациллами, реализуется благодаря активному синтезу органических кислот, перекиси водорода, мурамидазы, бактерицинов, микроцинов, дипиколиновой кислоты и еще около 200 антибактериальных субстанций, а также благодаря активации синтеза sIgA.

Восстановление коммуникативной активности кишечника осуществляется за счет секреции белка GroEL, который участвует в процессах иммуномодуляции, стимуляции секреции

интерлейкина-8. Уникальные олигопептидные ABC-транспортёры, также секретируемые бациллами, имеют потенциальную антибактериальную, противогрибковую и пробиотическую активность. Флагеллин, кроме препятствования адгезии, является лигандом для рецепторов клеток врожденной иммунной системы человека.

*B. clausii* протезирует утраченную метаболическую активность микробиоты за счет активного синтеза метаболитов, принимающих участие в углеводном (8 ферментов), липидном (липазы) и белковом обменах (2 протеазы, в т. ч. щелочная).

Восстановление активности пищеварения происходит в результате производства ферментов ксиланазы, целлюлазы, амилазы, М-, Н-, N-протеаз, а также других катализаторов, которые принимают участие в гидролизе крахмала, деконъюгации желчных кислот и др. Белки-транспортёры участвуют в процессах переноса через стенку кишечника ионов минералов, воды и др.

Детоксикационная активность *B. clausii* обеспечивается белками, принимающими участие в инактивации ряда активных ферментов, метаболитов азот- и углеродсодержащих соединений, мочевины, гистамина, билирубина, холестерина, нитратов, например ацетилмурамоил-L-аланинамидазой – белком, катализирующим оборот и деградацию пептидогликана клеточной стенки бактерий.

Секреты бацилл уменьшают pH среды кишечного содержимого, что ведет к угнетению размножения гнилостных, патогенных микроорганизмов, тем самым обеспечивая стабильность состава кишечной микрофлоры. Модулирование активности иммунного ответа происходит за счет ферментов *B. clausii*. Они перенаправляют иммунный Th2-ответ на более физиологичный Th1, ориентированный на адекватную борьбу с инфекциями. Белки бацилл активно влияют на процессы транскрипции, обеспечивая прочтение и интерпретацию генетической информации. Например, синтезируемая бациллами аминопептидаза ответственна за созревание и деградацию белков, контроль клеточного цикла.

Наиболее целесообразным будет использование препарата Энтерожермина одновременно с началом и на протяжении всего курса антибиотикотерапии (между двумя приемами антибиотика в дозировке по 2-3 капсулы в сутки или по одному питьевому флакону суспензии 2-3 раза в сутки). Использовать препарат необходимо на фоне максимально адекватного питания и восполнения водно-электролитных потребностей, тем самым создавая нутритивное депо для микробиоты кишечника.

**Таким образом, пробиотик Энтерожермина является энтеропротектором, благодаря *Bacillus clausii*, что способствует восстановлению постантибактериальной микробиоты и препятствуют распространению антибактериальной резистентности.**

Список литературы находится в редакции.

3