

Происхождение и причины распространения антибиотикорезистентности в микробных популяциях

Сергей Сидоренко

Детский научно-клинический центр инфекционных болезней
Кафедра медицинской микробиологии СЗГМУ им. И.И. Мечникова
Санкт-Петербург

Nothing in biology makes
sense except in the
light of evolution

Ничто в биологии не
имеет смысла, кроме как
в свете эволюции

Dobrzhanskii, T. G.

Дображанский Ф.Г.

Am. Biol. Teach. 1973. 35:125–129

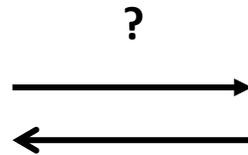
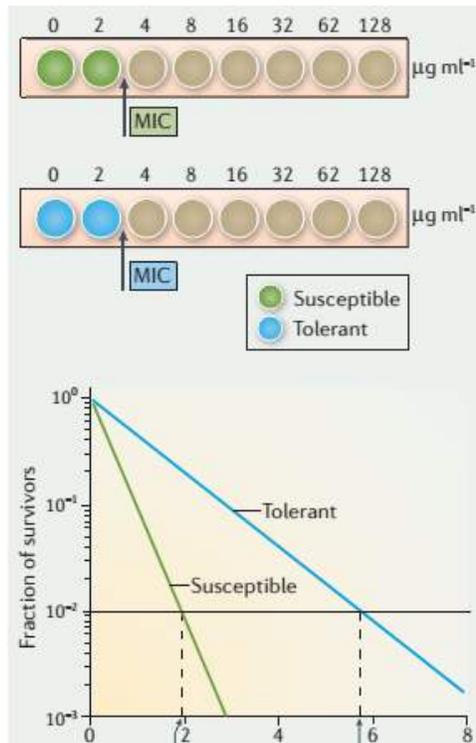
Только эволюция может пролить
свет на инфекции, антибиотики и
резистентность

Генетические механизмы формирования резистентности

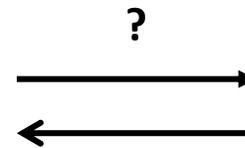
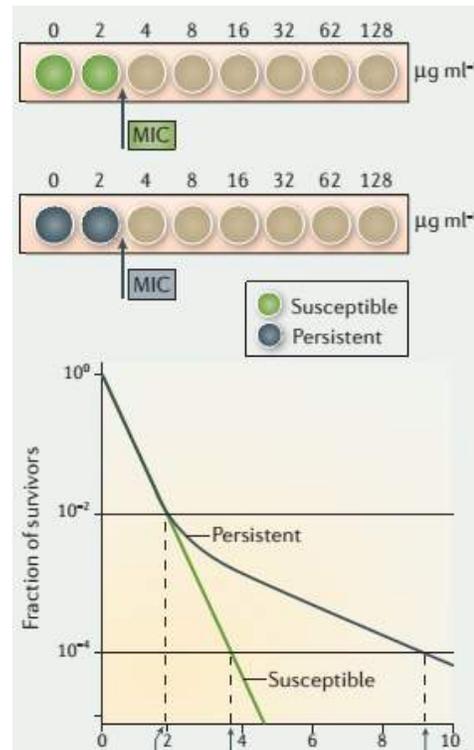
- Мутации в собственном геноме
 - Мутации изменяющие экспрессию бета-лактамаз
 - Пенициллинсвязывающие белки (бета-лактамы)
 - ДНК-гираза, топоизомераза IV (фторхинолоны)
 - ДНК-зависимая РНК-полимераза (рифампин)
- Приобретение экзогенной генетической информации
 - Бета-лактамазы
 - Аминогликозид-модифицирующие ферменты
 - Гены устойчивости к ванкомицину

Стратегии бактерий по противодействию антибиотикам

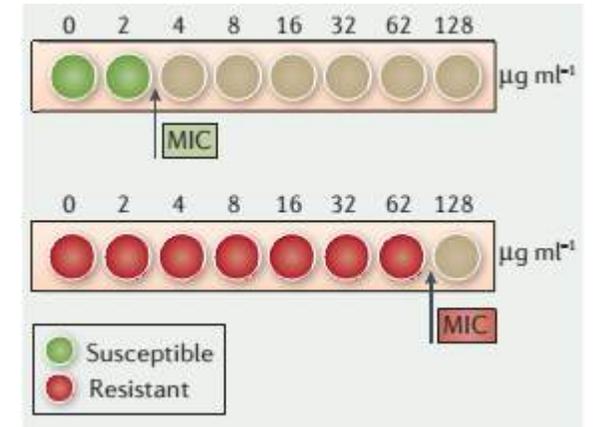
Толерантность



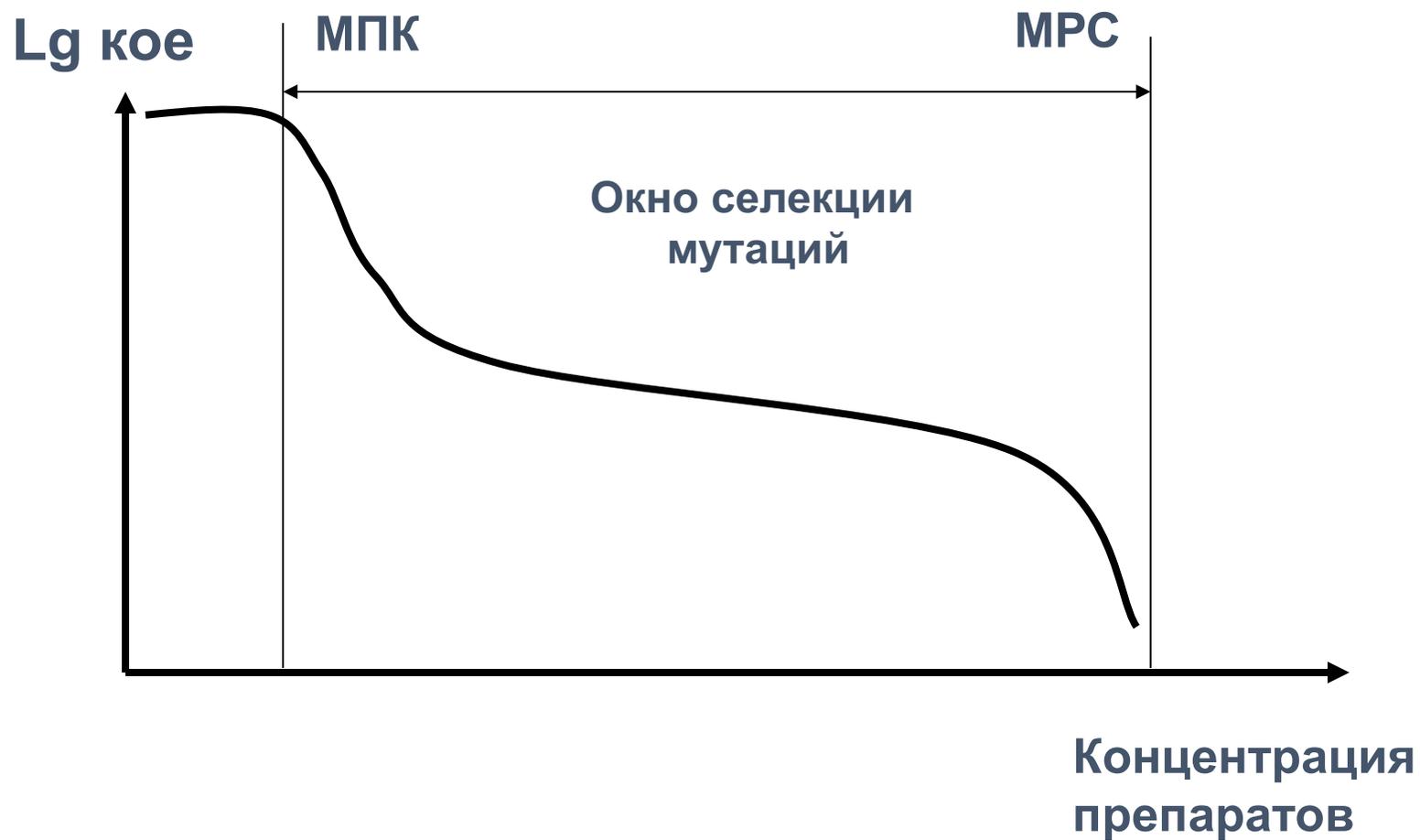
Персистентность



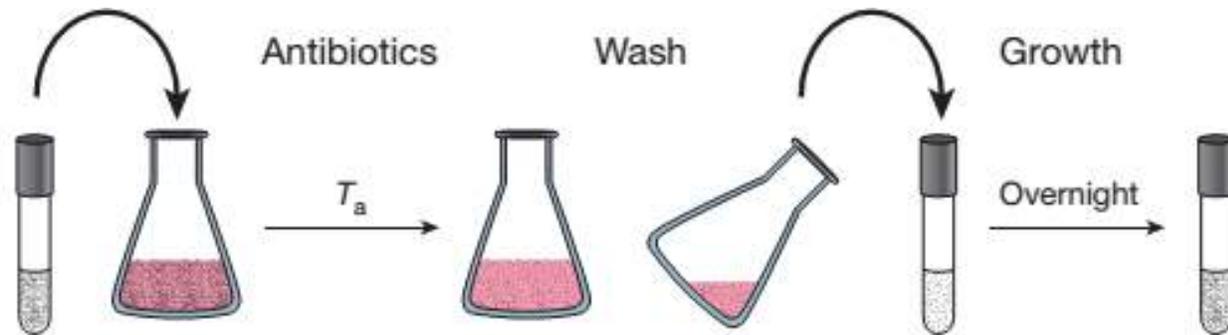
Резистентность



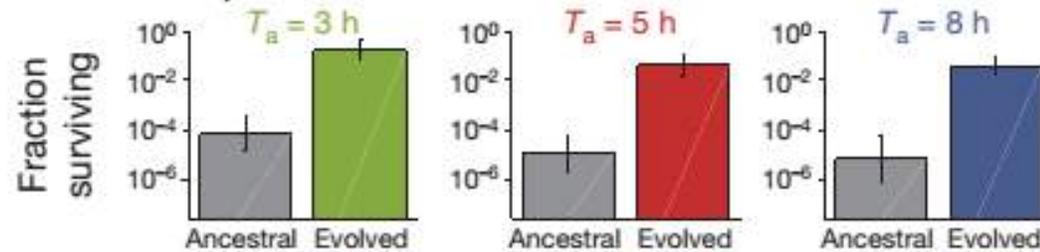
Концентрации антибиотиков предотвращающие селекцию мутаций
(MPC - mutation prevention concentration) [Drlica K]



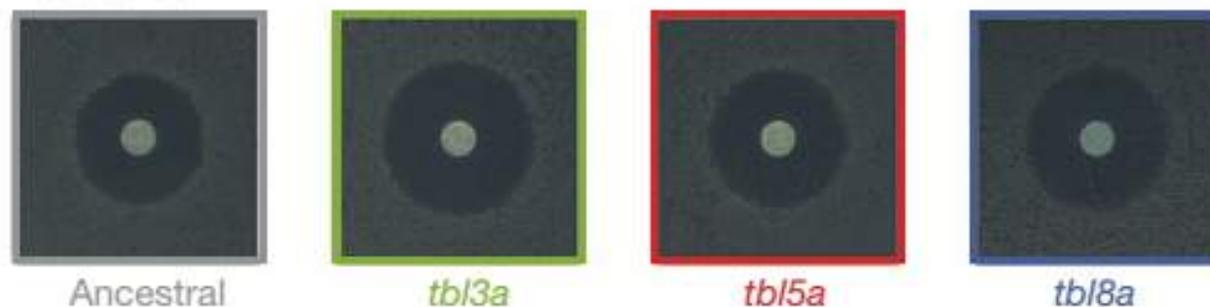
Индукция толерантности за пределами «окна» селекции мутаций



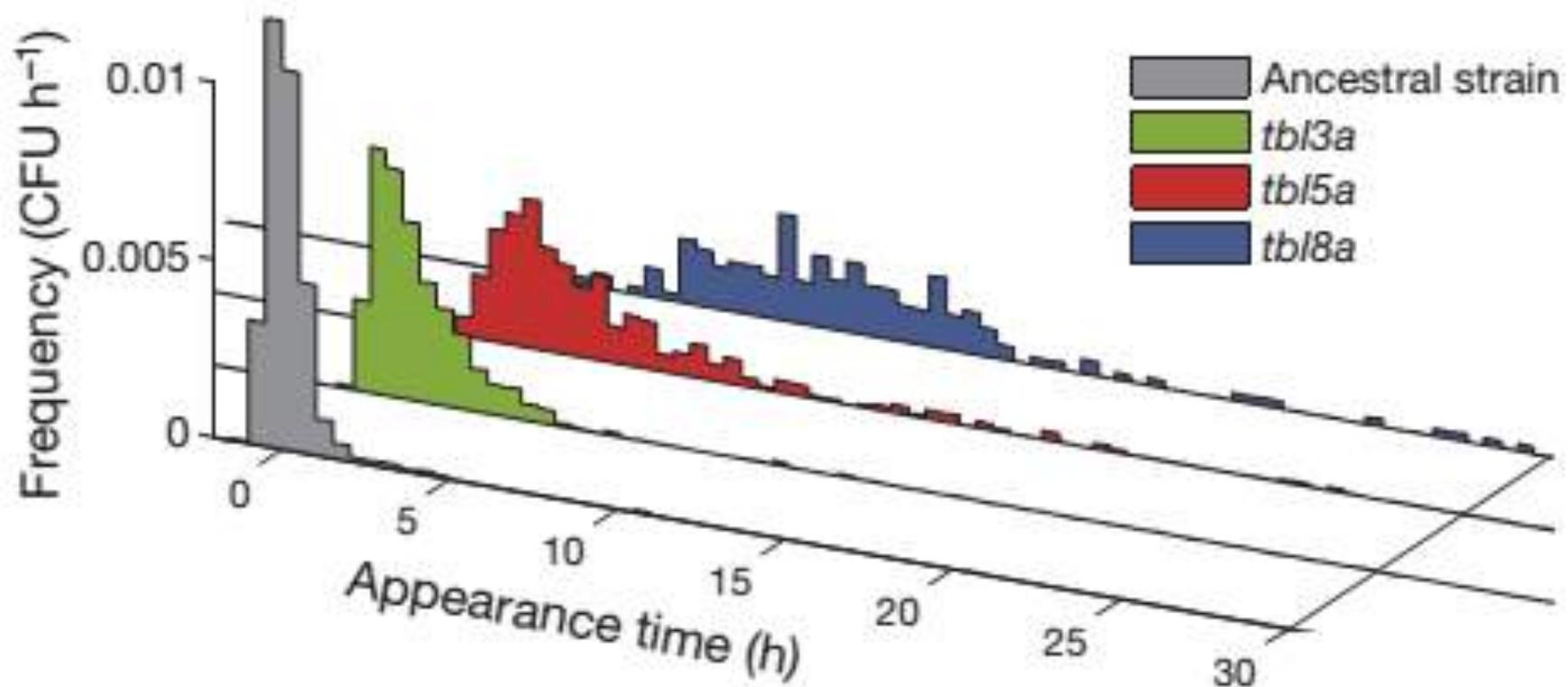
Survival fraction after exposure



Resistance

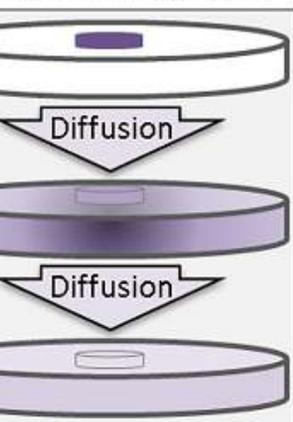


Длительность лаг-фазы и толерантность



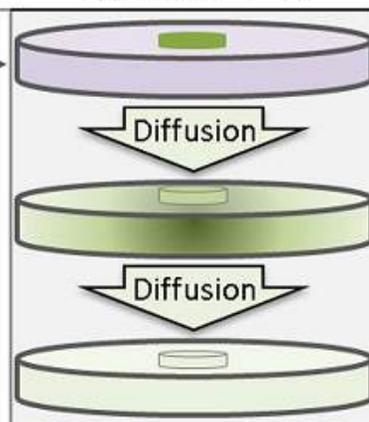
TDtest – step I

Application of antibiotic Disk on agar plate

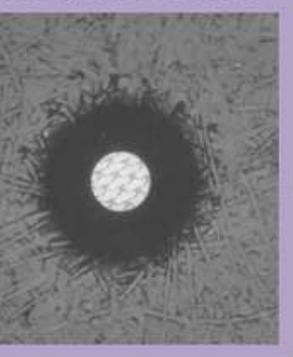


D TDtest- step II

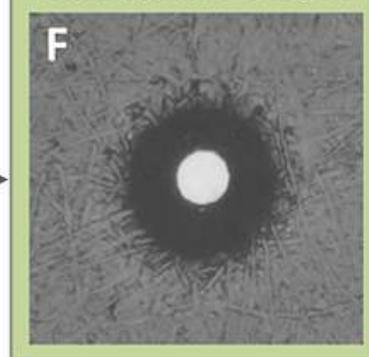
Replacing Antibiotic Disk with Nutrients Disk



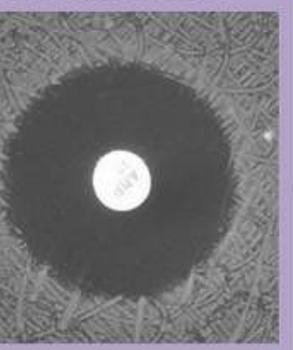
Susceptible-step I



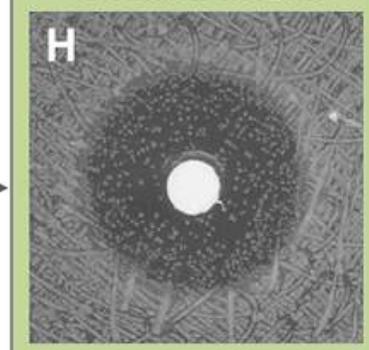
Susceptible-step II



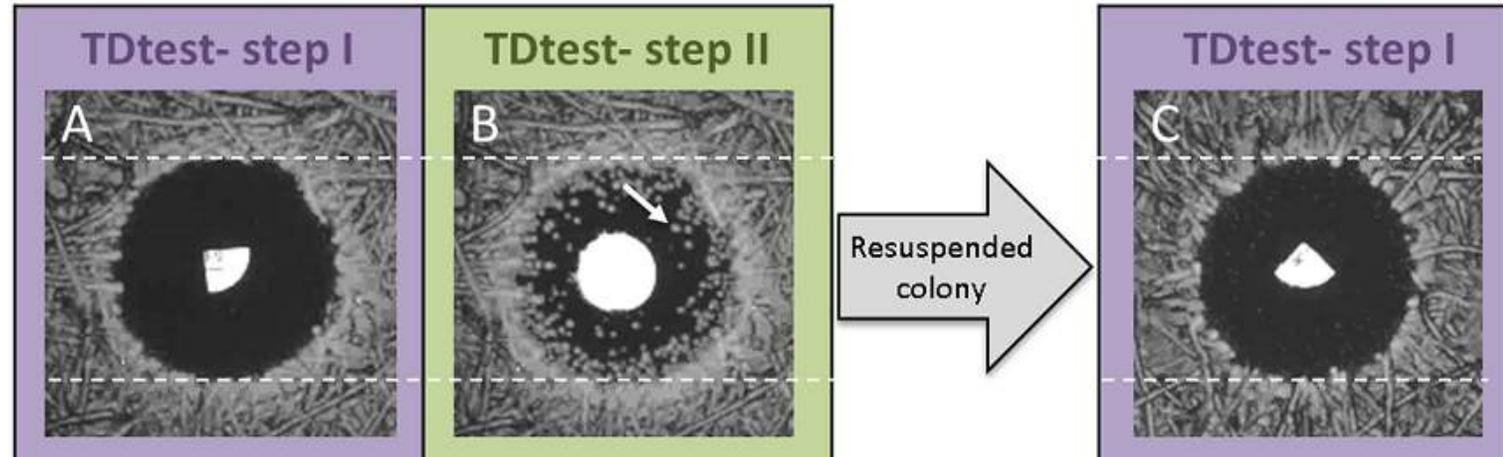
Tolerant-step I



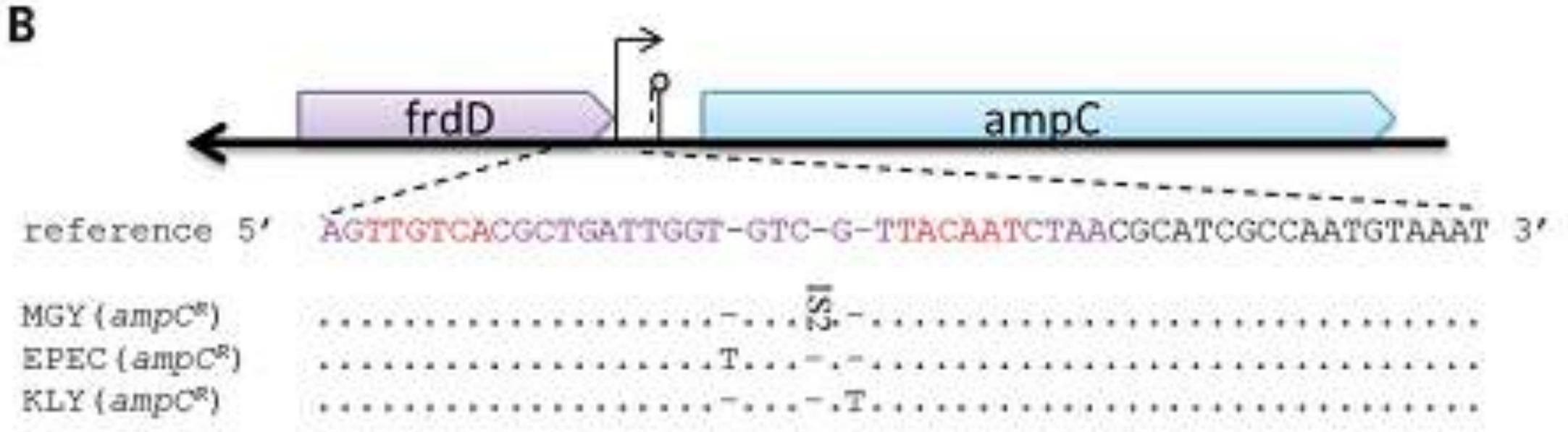
Tolerant-step II



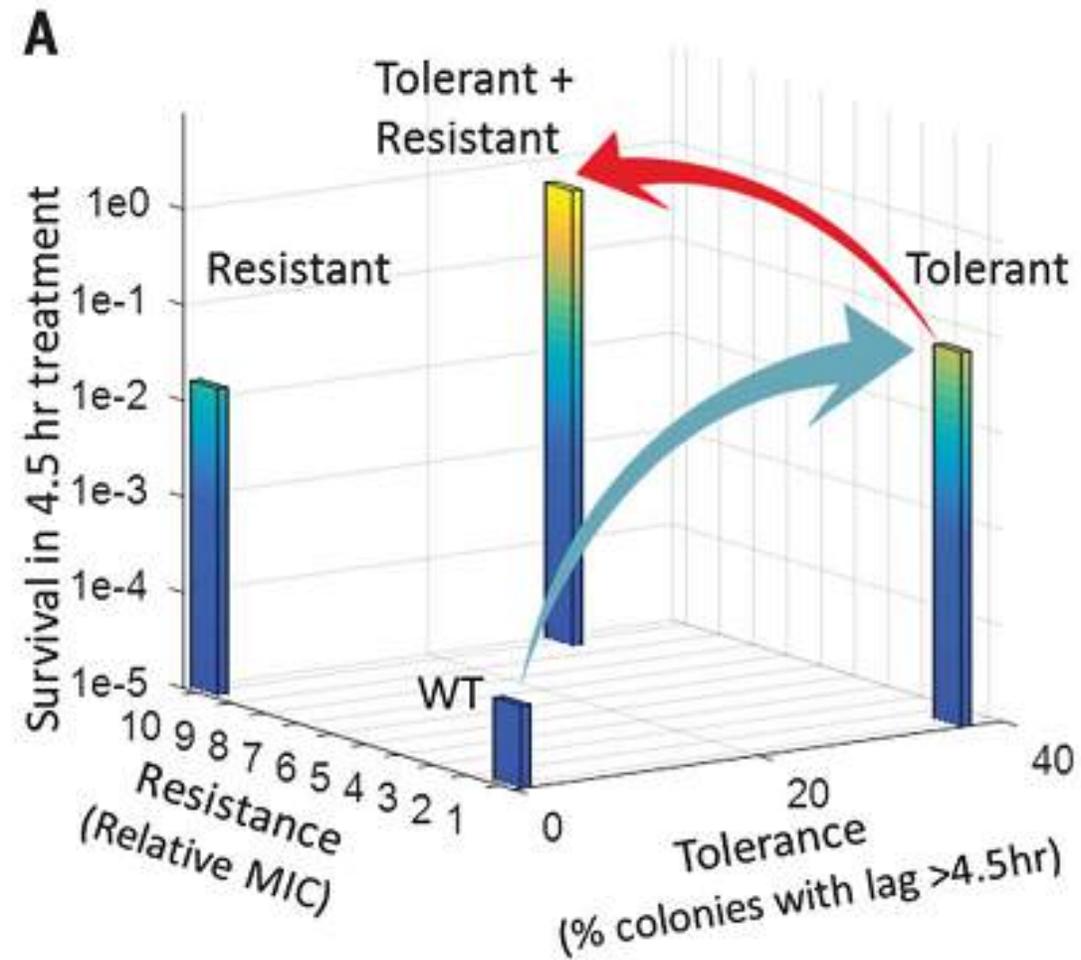
Клиническое значение толерантности



Появление мутаций, в промоторной области гена *ampC*, приводящих к его гиперэкспрессии и формированию устойчивости

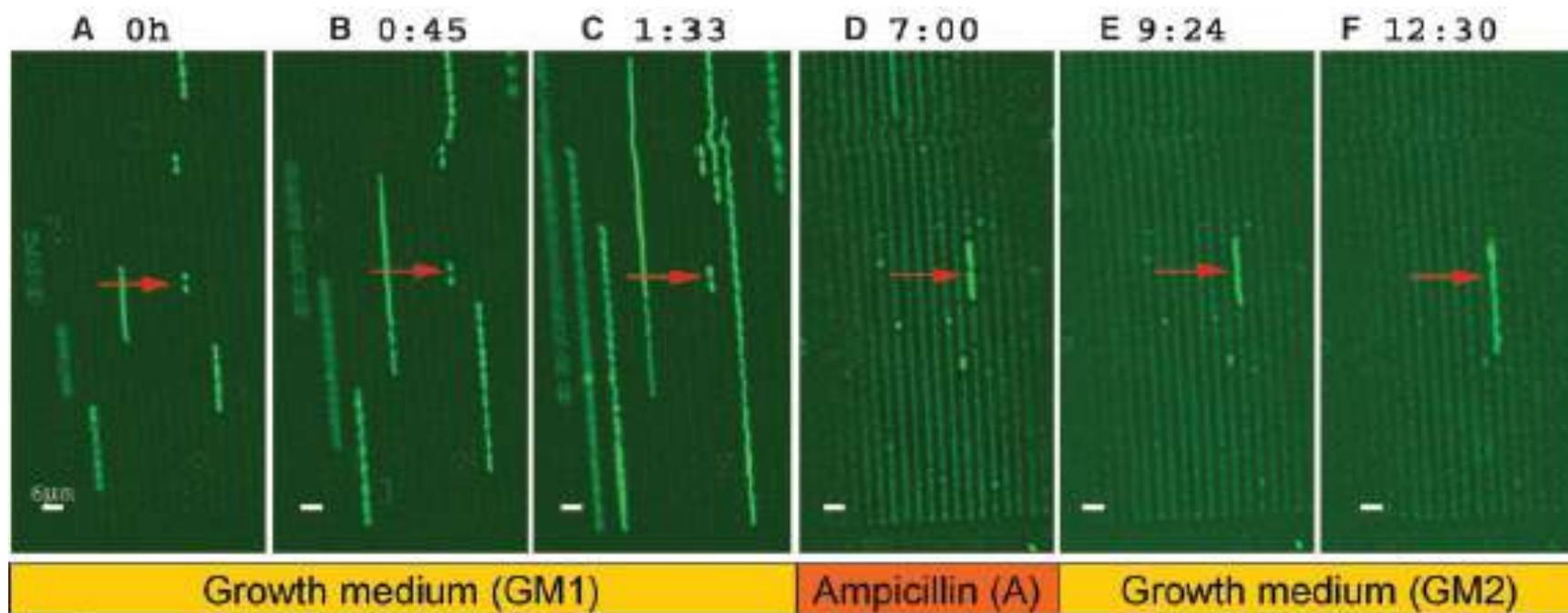


Толерантность и эволюция резистентности



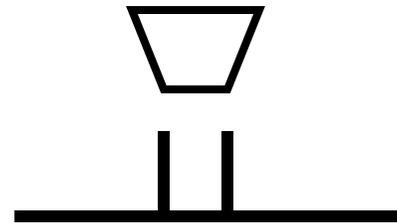
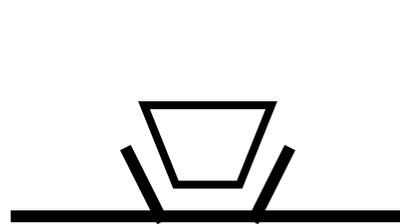
Визуализация «персистеров»

[Balaban N.Q., 2004]



S. pneumoniae: механизм устойчивости к бета-лактамам

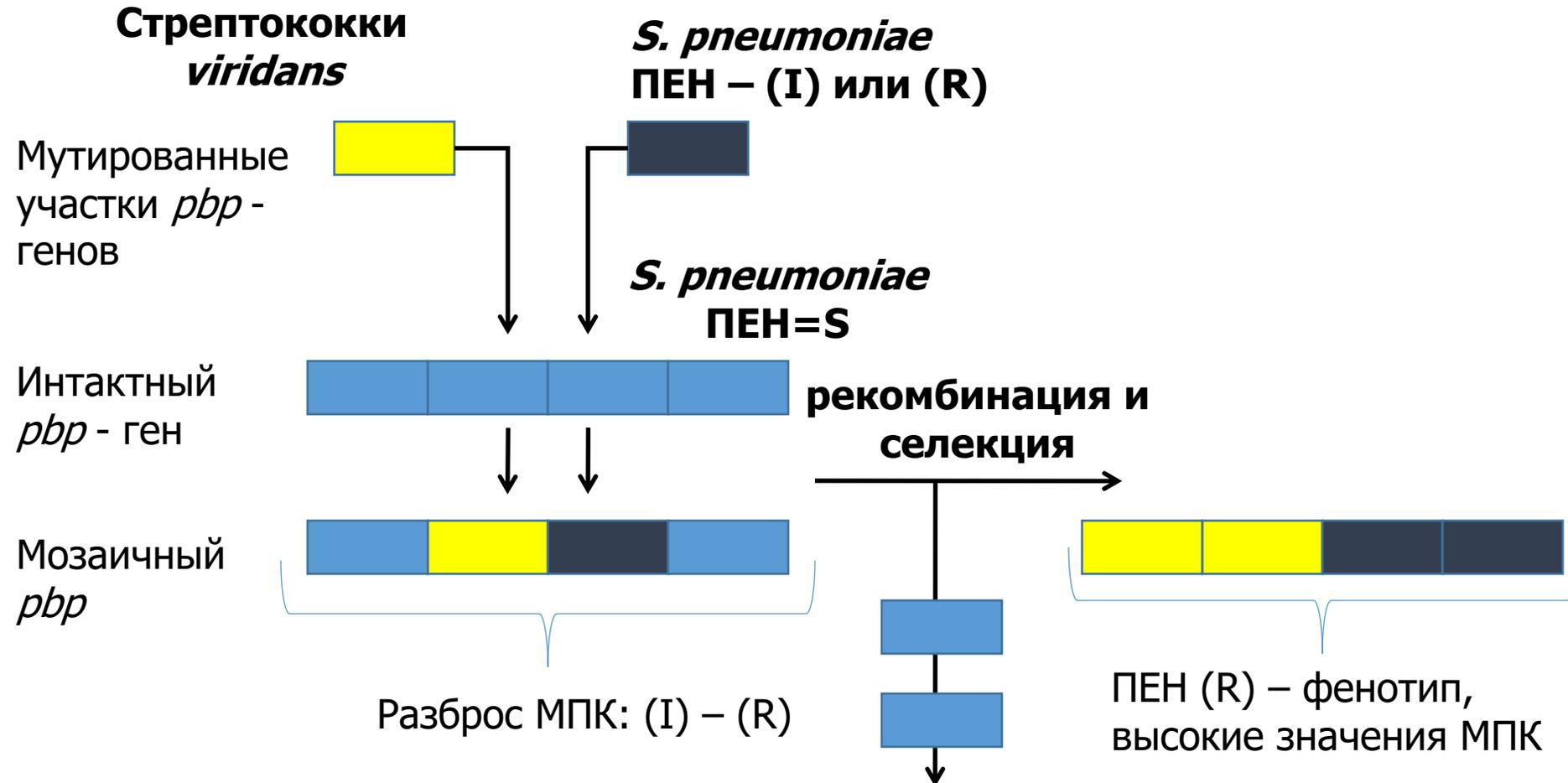
- Модификация пенициллинсвязывающих белков коррелирует с микробиологической устойчивостью
 - Снижение сродства к бета-лактамам
 - Продукция бета-лактамаз не описана



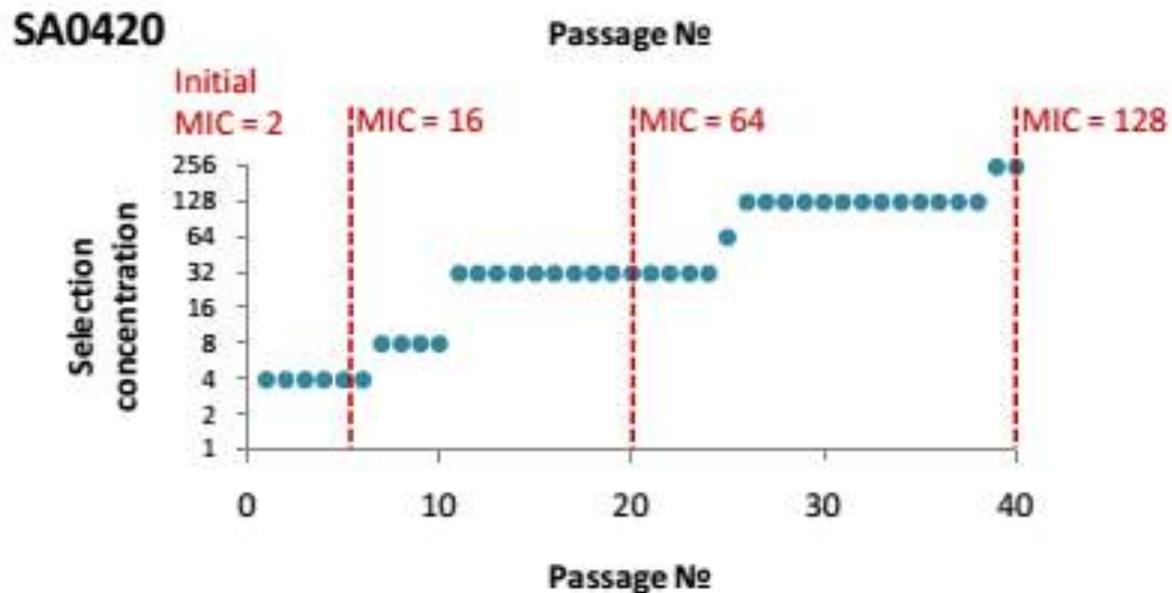
ПСБ чувствительного штамма ПСБ устойчивого штамма

S. pneumoniae – устойчивость к бета-лактамам

Формирование «мозаичных» ПСБ

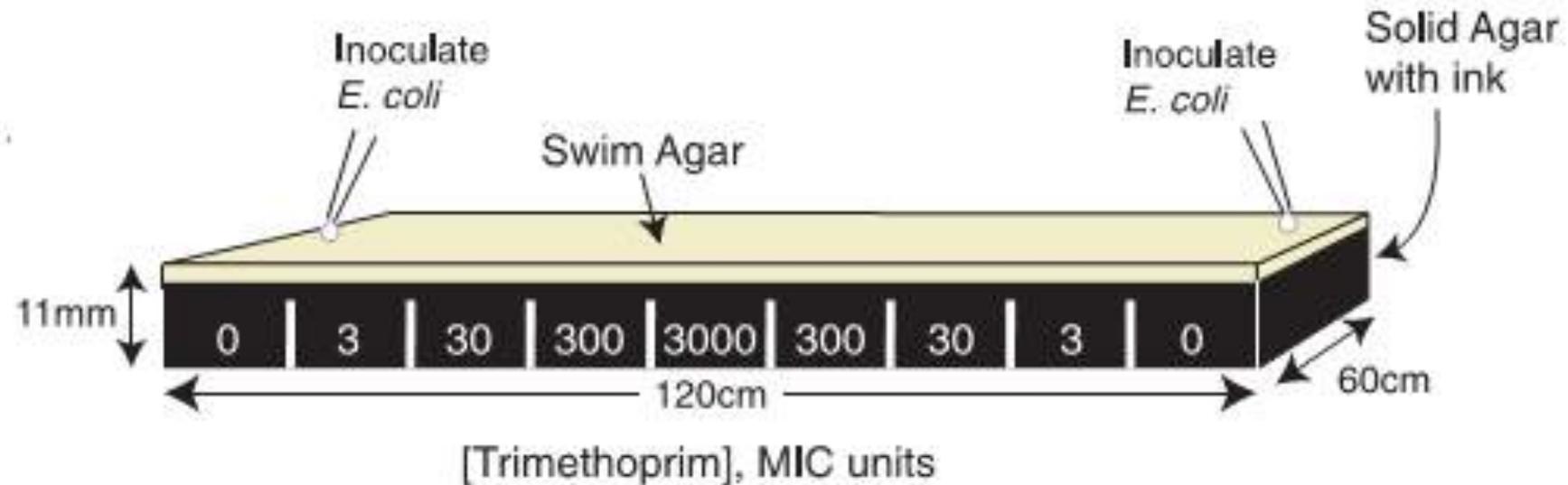


Накопление мутаций в ходе селекции устойчивости к цефтаролину



Product name	5	20	40
DNA repair protein, recN	NEG	NEG	POS
Shikimate 5-dehydrogenase I alpha, aroE	NEG	NEG	POS
DNA topoisomerase I, topA	NEG	NEG	POS
Ribitol-5-phosphate dehydrogenase, tarJ	NEG	POS	POS
Lipoteichoic acid synthase, ltaS	NEG	NEG	POS
Hypothetical protein	NEG	NEG	POS
Penicillin-binding protein 4, pbp4	NEG	POS	POS
Penicillin-binding protein 4, pbp4	NEG	NEG	POS
N-acetylmannosaminyltransferase, tarA	NEG	NEG	POS
N-acetylmannosaminyltransferase, tarA	NEG	NEG	POS
SSU ribosomal protein S8p (S15Ae), rpsH	NEG	NEG	POS
Glycosyltransferase, gtf1	NEG	NEG	POS
DNA-directed RNA polymerase beta subunit, rpoC	NEG	NEG	POS
Hypothetical protein	POS	POS	POS
Hypothetical protein	POS	POS	POS
Hypothetical protein (CP013955.1)*	NEG	NEG	POS
Efem/EfeO family lipoprotein	POS	POS	POS
Efem/EfeO family lipoprotein	POS	POS	POS
Efem/EfeO family lipoprotein	POS	POS	POS
Formamidopyrimidine-DNA glycosylase	POS	POS	POS
Hypothetical protein	POS	POS	POS
Superfamily I DNA/RNA helicase protein	POS	POS	POS
Hypothetical protein	NEG	NEG	POS

Эволюция резистентности в результате спонтанных мутаций в реальном времени и пространстве



Baym, M., et al. (2016). "Spatiotemporal microbial evolution on antibiotic landscapes." Science **353**(6304): 1147-1151.

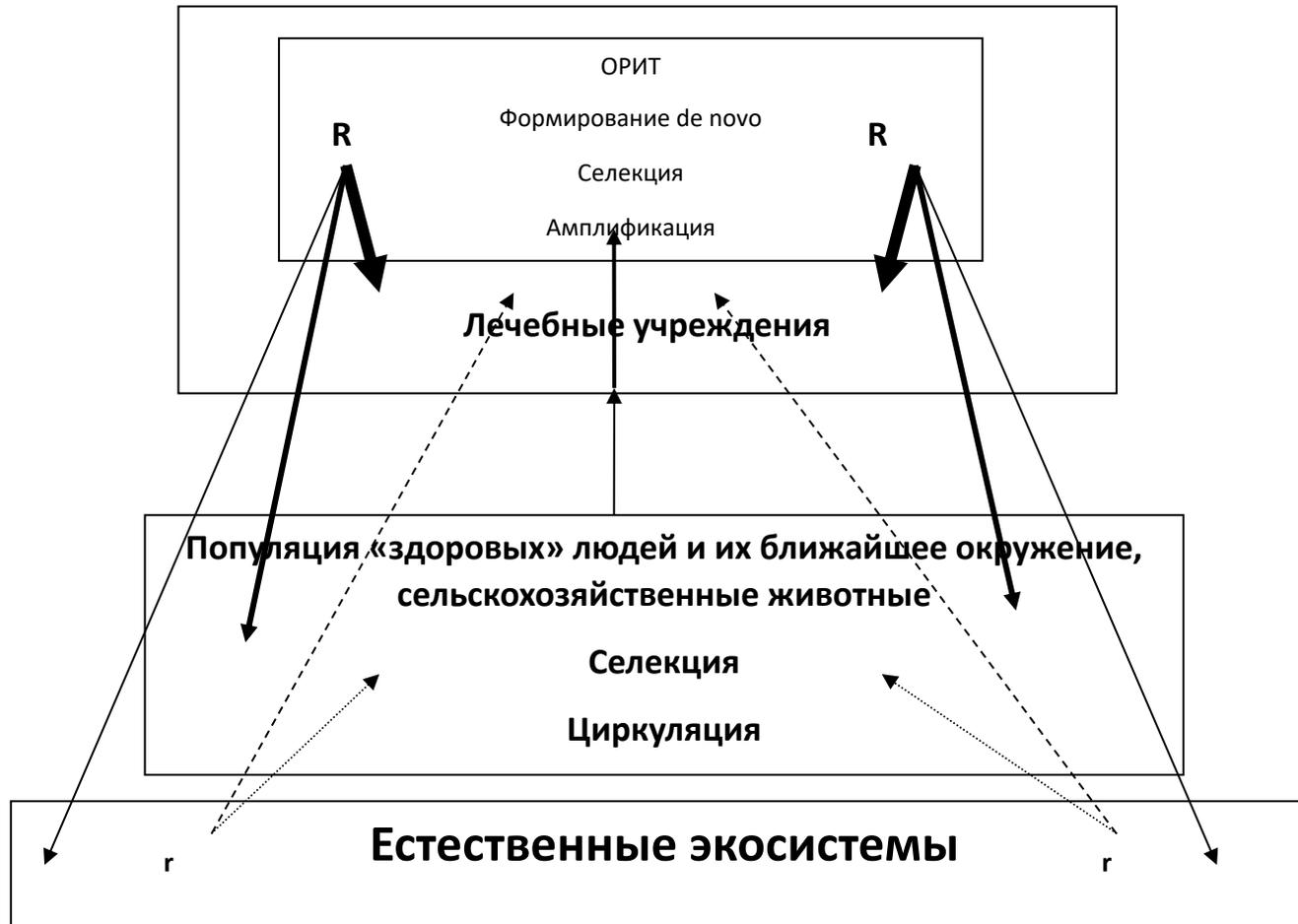
Съемка велась с интервалом 10 мин в течение 30 дней



Генетические механизмы формирования резистентности

- Приобретение экзогенной генетической информации
 - Бета-лактамазы
 - Аминогликозид-модифицирующие ферменты
 - Гены устойчивости к ванкомицину
- Мутации в собственном геноме
 - Мутации изменяющие экспрессию бета-лактамаз
 - Пенициллинсвязывающие белки (бета-лактамы)
 - ДНК-гираза, топоизомераза IV (фторхинолоны)
 - ДНК-зависимая РНК-полимераза (рифампин)

Циркуляция детерминант устойчивости



Наиболее значимые карбапенемазы

Название	Класс	Выделение/ публикация	Страна	Первичный хозяин
КРС-тип	A	1996 2001. AAC. Yigit, H., et al.	США	<i>Chromobacterium</i> sp.
ОХА-48-тип	D	2001 2004. AAC. Poirel, L., et al.	Турция	<i>Shewanella xiamenensis</i>
IMP-тип	B	1988 1994. AAC Osano, E., et al.	Япония	Не известен
VIM-тип	B	1997 1999. AACV. Lauretti, L., et al.	Италия	Не известен
NDM-тип	B	2008 2009. AAC. Yong, D., et al	Индия/Швеция	Не известен

Хромосомные металло-бета-лактамазы свободно-живущих бактерий

B1

- *Bacillus cereus*
- *Bacillus anthracis*
- *Chryseobacterium indologenes*
- *Chryseobacterium meningosepticum*
- *Chryseobacterium gleum*
- *Myroides odoratus*
- *Myroides odoratimimus*
- *Flavobacterium johnsoniae*

B2

- *Aeromonas hydrophilia*
- *Aeromonas veronii*
- *Serratia fonticola*

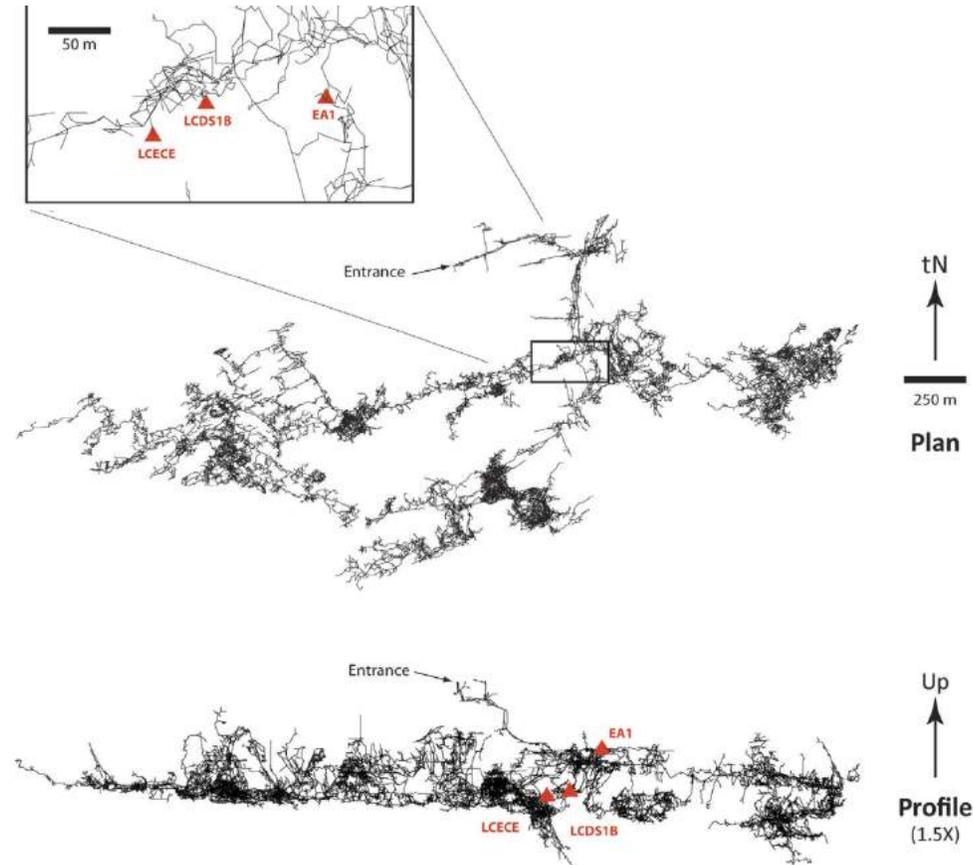
B3

- *Caulobacter crescentus*
- *Janthinobacterium lividium*
- *Legionella gormanii*
- *Chryseobacterium meningosepticum*
- *Stenotrophomonas maltophilia*

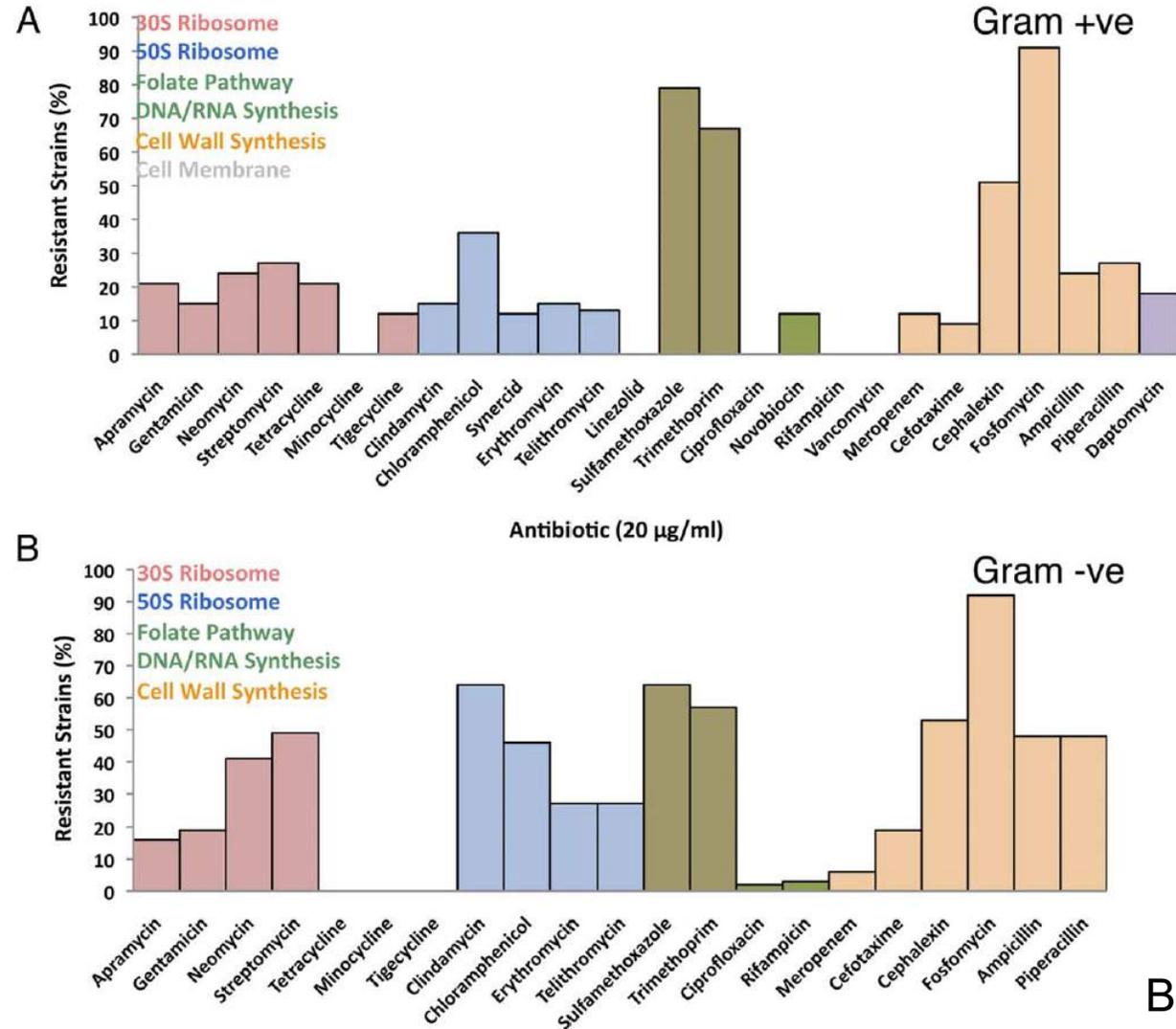
Резистентность в Антарктиде

- Полярные станции Greenwich Island, Antarctic Peninsula, King George Island
- Фекалии пингвинов
 - Изолят E. coli – устойчивый к хлорамфениколу
- Вода с поверхности океана до 300 м от стока со станций
 - E. coli CTX-M-15
 - ST410, ST685, ST987, ST131
 - E. coli CTX-M-1
 - ST410, ST401, ST131, ST227

Пещера Lechuguilla, национальный парк Carlsbad Caverns, США - изолирована от окружающей среды 4 – 7 млн лет назад – точки получения образцов



Частота устойчивости к антибиотикам различных групп



Причины появления и распространения резистентности

СТРАТЕГИЯ

предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года

Основными причинами появления и распространения антимикробной резистентности являются:

нерациональное и (или) бесконтрольное применение противомикробных препаратов, химических и биологических средств в здравоохранении, сельском хозяйстве, в том числе животноводстве, растениеводстве, при разведении аквакультуры, а также в пищевой промышленности;

недостаточная доступность средств диагностики устойчивости микроорганизмов к лекарственным препаратам в практическом здравоохранении и ветеринарии;

нарушение качественного и количественного состава нормальной микробиоты человека или животных;

загрязнение окружающей среды и возникновение устойчивости, связанной с использованием генно-инженерно-модифицированных организмов и вредных организмов растений;

отсутствие механизмов межведомственного взаимодействия по предупреждению распространения антимикробной резистентности и ее мониторинга.

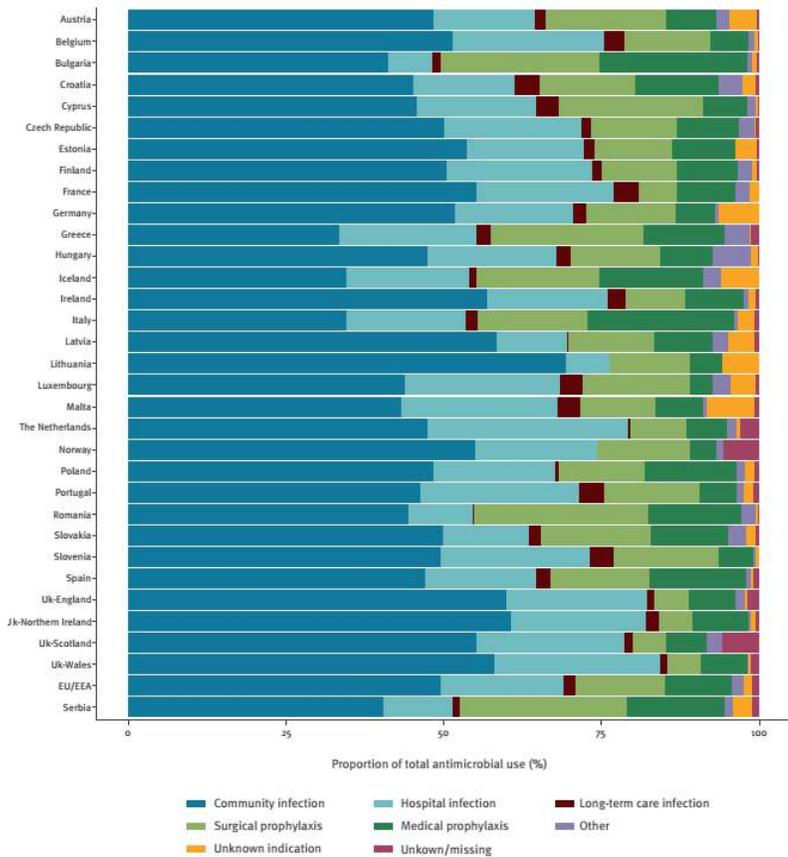
- Избыточное и нерациональное потребление антибиотиков не являются причиной появления резистентности
- Полностью исключить или предотвратить появление и распространение резистентности принципиально невозможно
- Необходимы стратегии по сосуществованию с резистентностью
- Прежде всего, осознание основных угроз

Потребление антибиотиков в стационарах стран ЕС – исследование одного дня

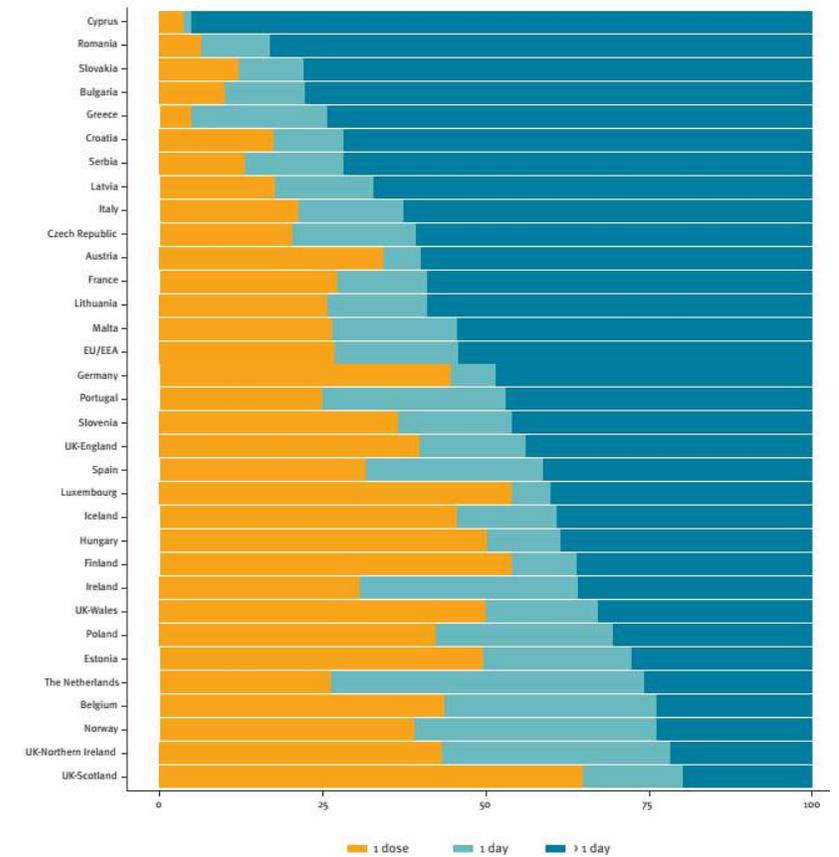
Plachouras D. et al. Eurosurveillance. 2018

В день исследования 30.5% получали антибиотики

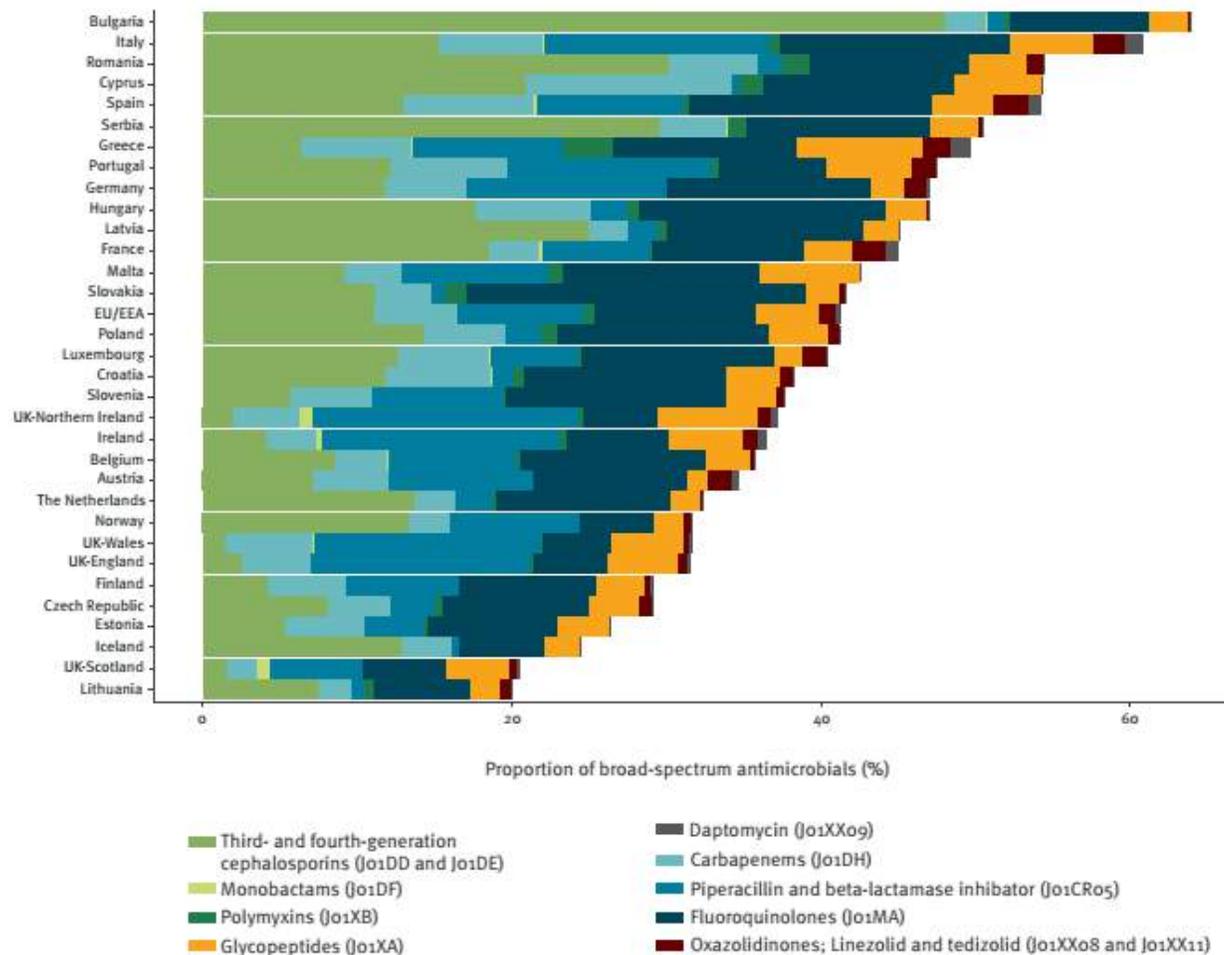
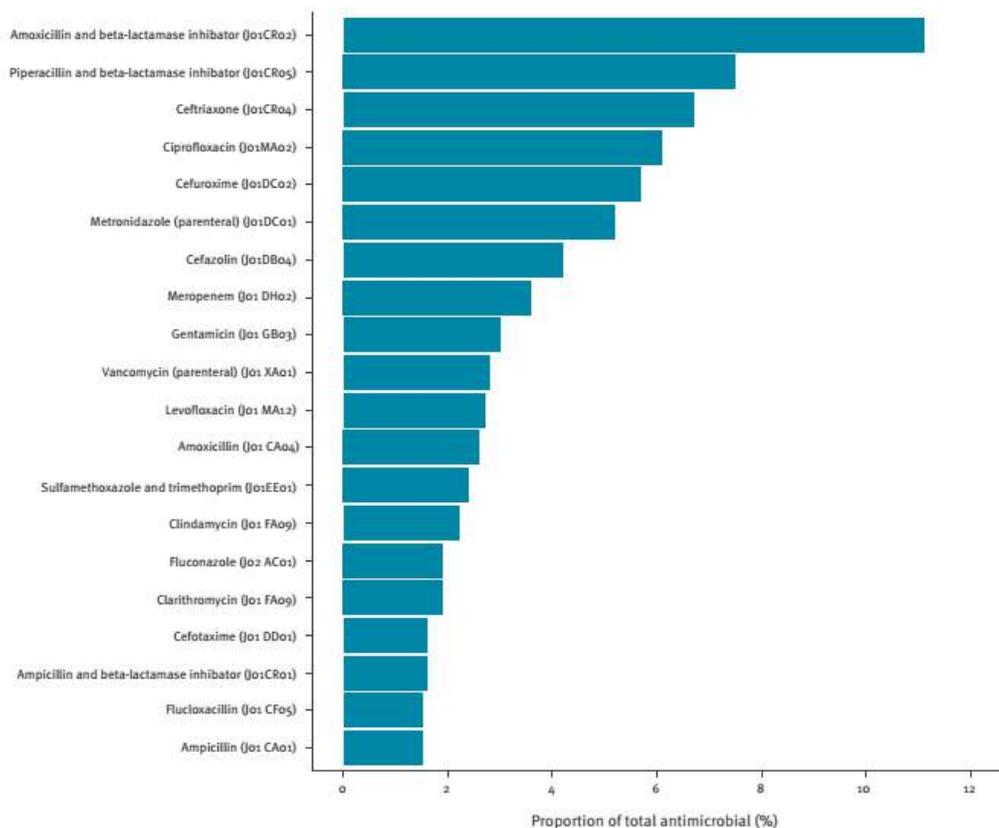
- Кипр – 70,6 DDD на 100 пациентов
- Венгрия – 19.8 DDD на 100 пациентов
- Всего – 46.0 DDD на 100 пациентов



Длительность хирургической профилактики



Потребление антибиотиков в стационарах стран ЕС – исследование одного дня



Plachouras D. et al. Eurosurveillance. 2018

Структура назначения антибиотиков в стационарах Санкт-Петербурга

Антибиотик	Количество назначений	
	(n=3736)	% (100)
цефтриаксон	1062	28
метронидазол	581	16
ципрофлоксацин	535	14
цефазолин	458	12
цефотаксим	387	10
амикацин	288	8
гентамицин	113	3
ампициллин/сульбактам	75	2
амоксциллин/клавуланат	42	1
ампицилин	28	0,8
офлоксацин	24	0,7
фуразолидон	23	0,7
ванкомицин	22	0,7
цефатоксим	21	0,7
цефоперазон/сульбактам	19	0,6
доксциклин	18	0,6
меропенем	16	0,5
имипенем	13	0,4
амоксциллин	11	0,3

Заключение

- Несмотря на очевидную эволюционную связь антибиотиков и формирования к ним устойчивости конкретные механизмы отличаются крайним разнообразием и сложностью
- Формирование стратегии сдерживания резистентности возможно только на основе знаний фундаментальных основ процесса

