

Развитие проблемы антибиотикорезистентности в период пандемии COVID-19: динамика процесса и направления научных исследований

Во втором номере журнала за 2020 г. мы обращались к проблеме применения экспресс-методов выявления антибиотикорезистентности в условиях эпидемии коронавирусной инфекции, коснувшись и ситуации с динамикой резистентности. К настоящему времени накопилось достаточно большое количество информации о развитии проблемы лекарственной устойчивости при массовом применении антибиотиков для лечения осложнений при новой коронавирусной инфекции, связанной с бактериальными пневмониями. В связи с этим научные направления исследований, связанные с преодолением резистентности, приобрели особо значение. В настоящем сообщении мы приводим аналитические материалы о сегодняшней ситуации с бактериальной резистентностью и возможные пути решения проблемы при интенсивном научном сопровождении данной ситуации.



В условиях пандемии COVID-19 во всех странах мира значение резистентности существенно возросло в связи с массовым, не всегда оправданным применением антибиотиков у пациентов с коронавирусной инфекцией. Так, в мире 74,6% (95% ДИ 68,3–80,0%) пациентов с COVID-19 получали антибиотики (7469 исследований); рост назначений связан с увеличением возраста пациентов (OR 1,45 на 10 лет, 95% ДИ 1,18–1,77), а также с увеличением доли пациентов, которым требовалась искусственная вентиляция легких (OR 1,33 на 10% увеличения, 95% ДИ 1,15–1,54). В Великобритании, согласно руководству Национального института охраны здоровья и совершенствования медицинской помощи (NICE), для лечения тяжелой пневмонии вне зависимости от ее этиологии пациенты получают антибиотики широкого спектра действия. Вызывают беспокойство клинические данные, свидетельствующие о том, что нерациональное эмпирическое применение антибиотиков широкого спектра действия может быть ассоциировано с более высокой летальностью, по крайней мере в случае сепсиса.

По-видимому, в стационарах происходит распространение как SARS-CoV-2, так и бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, что приводит к увеличению числа летальных исходов вследствие ограниченности арсенала антибиотиков для лечения внутрибольничных инфекций. Это также может поставить под угрозу лечение пациентов после операций, трансплантаций или химиотерапии. Увеличение содержания антимикробных препаратов в сточных водах больниц может изменить их концентрацию в окружающей среде. Это, в свою очередь, приведет к повышению вероятности распространения антибиотикорезистентных микроорганизмов у животных, а также в сельском хозяйстве и естественных экосистемах. Широкое использование дезинфицирующих средств в качестве мер защиты от SARS-CoV-2 может способствовать развитию устойчивости бактерий к антимикробным препаратам, например за счет эффлюксных белков-транспортеров.

Обращаясь к данным литературы по этому вопросу, следует отметить, что инфекции бактериальной природы нечасто осложняют течение COVID-19. Так, в мета-анализе 24 исследований, включавших 3338 пациентов, частота бактериальной ко-инфекции на момент обращения за медицинской помощью составила 3,5% (95% ДИ 0,4–6,7%); вторичные бактериальные инфекции осложняли течение COVID-19 у 14,3% пациентов (95% ДИ 9,6–18,9%); в целом доля пациентов с бактериальными инфекциями составила 6,9% (95% ДИ 4,3–9,5%); бактериальные инфекции чаще регистрировались у пациентов с тяжелым течением COVID-19 (8,1%, 95% ДИ 2,3–13,8%). По данным другого мета-анализа 31 исследования, бактериальная ко-инфекция выявлена в 8,6% (95% ДИ 4,7–15,2%). Согласно результатам мета-анализа, включавшего 30 исследований и 3834 госпитализированных больных с COVID-19, подтверждение вторичной бактериальной инфекции было получено у 7 и 15% пациентов, находившихся в терапевтических отделениях и отделениях реанимации и интенсивной терапии соответственно. Однако по результатам патологоанатомических исследований 32–50% пациентов, умерших от COVID-19, имели бактериальную суперинфекцию легких.

Наиболее серьезную проблему представляют штаммы, не поддающиеся лечению рекомендованными лекарственными препаратами. Наблюдается быстрый рост числа микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью, в том числе микроорганизмов группы ESKAPE: *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра; *Enterobacterales*, устойчивых к карбапенемам и продуцирующих металло-β-лактамазы Нью-Дели; *Acinetobacter baumannii*; устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus*, а также пан-эхинокандин-резистентные *Candida glabrata* и мульти-триазол-устойчивый *Aspergillus fumigatus*, присоединение которых к ковидной пневмонии повышает вероятность неблагоприятного исхода заболевания.

В качестве возбудителей ко-инфекций выделяли *S. pneumoniae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *A. baumannii*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Candida* и *Aspergillus* sp., а также различные вирусы. Основные жизнеугрожающие микозы у больных COVID-19 – инвазивный аспергиллез (COVID-ИА) и инвазивный кандидоз (COVID-ИК). Другие микозы (мукомикоз и пр.) встречаются значительно реже. COVID-ИА и COVID-ИК возникают преимущественно у больных в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Риск развития COVID-ИК у больных в ОРИТ без специфических факторов риска (например, выраженной нейтропении) невысок.

В Ухане, Китай, Li et al. продемонстрировали, что у госпитализированных пациентов с COVID-19 с приобретенными вторичными бактериальными инфекциями наиболее распространенными патогенами были *A. baumannii* (35,8%), за которым следовали *K. pneumoniae* (30,8%) и *S. maltophilia* (6,3%); уровень резистентности к карбапенемам для *A. baumannii* и *K. pneumoniae* составлял 91,2 и 75,5% соответственно.

Отягощающими обстоятельствами присоединения полирезистентной вторичной инфекции является необходимость искусственной вентиляции легких: так, Pickens (США) проанализировал 386 образцов бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) от 179 таких пациентов с поражениями SARS-CoV-2. Бактериальная вторичная инфекция в течение 48 ч после интубации выявлялась у 21% пациентов. У 44,4% развился по крайней мере один эпизод вентилятор-ассоциированной пневмонии (ВАП); 20,8% начальных ВАП были вызваны полирезистентными патогенами. При этом увеличение доли резистентных микроорганизмов коррелировала с продолжительностью госпитализации.

Ретроспективное исследование показало, что частота колонизации устойчивых к карбапенемам *Enterobacterales* (CRE) увеличилась с 6,7% в 2019 г. до 50% в марте–апреле 2020 г. В РФ доля карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae* у пациентов с COVID-19 с тяжелыми пневмониями возросла до 72,2%.

Лечение инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами в эпоху COVID-19, связано как с поиском новых антибактериальных препаратов, так и с созданием препаратов, альтернативных антибиотикам. Особенно это актуально в отношении грамотрицательных бактерий, т.к. они составляют 50% антибиотикоустойчивых угроз из более 2,8 млн инфекций, резистентных к антибиотикам ежегодно регистрируемых в США (CDC).

На сегодняшний день в мире 13 антибиотиков проходят испытания 3-й фазы, семь из них оцениваются как варианты для лечения инфекций, вызванных грамотрицательными патогенными микроорганизмами: ингибиторы β-лактамазы (цефепим/энмезабакам, цефепим/таниборбактам, сульбактам/дурлобактам); карбапенемы (сулопенем, тебипенем); новые ингибиторы бактериальной топоизомеразы (гепотидацин, золифлорацин).

К альтернативным препаратам, имеющим множество достоинств, но не лишенным недостатков, относятся бактериофаги. Доступно несколько коммерческих фаговых препаратов, которые можно использовать против ESKAPE-патогенов. Stafal (Bohemia Pharmaceuticals, Словакия) – антистафилококковый фаговый препарат, Sextaphage (Microgen, ImBio, Нижний Новгород, Россия) – коктейль против *P. aeruginosa* и *E. coli*, а Pyophage (Грузинский институт бактериофагов, микробиологии и вирусологии им. Элиава) содержит бактериофаги, специфически устраняющие возбудителей гнойно-воспалительных и кишечных заболеваний. PhagoBioDerm – полимерная повязка, пропитанная коктейлем фагов, ципрофлоксацином и другими активными ингредиентами, обеспечивает длительное высвобождение фагов для лечения язв или раневых инфекций, вызванных *S. aureus* и *P. aeruginosa*.

В нашем журнале мы неоднократно публиковали материалы о развитии в ГНЦ ПМБ исследований по борьбе с резистентностью возбудителей инфекций. В рамках Центра геномных исследований разработан ряд препаратов биологического происхождения для этих целей. Проведены генноинженерные разработки по получению рекомбинантных молекул бактериофагов – эндолизинов, разрушающих клеточную стенку бактерий, и деполимераз, разрушающих биопленки, которые в сочетании с антибиотиками позволяют значительно повысить терапевтический эффект. Нароботаны образцы нативного бактериоцина – мундтицина P436 широкого спектра действия. Полученные образцы препаратов всесторонне изучены на биологических моделях и имеют выраженную клиническую перспективу, так как резистентность к ним у патогенов развивается медленно и не всегда,

Новым инструментом достижения элиминации только специфических видов бактерий с сохранением остальной части микробиоты могут служить видоспецифические программируемые RNA-содержащие антибиотики, которые открывают возможность создания нового поколения персонализированных терапевтических препаратов, основанных на редактировании микробиома. Они могут быть синтезированы химически и запрограммированы на поражение конкретных видов бактерий. Наиболее перспективными направлениями на настоящий момент представляется использование малых некодирующих RNA (srRNA), играющих важную роль в регуляции трансляции у бактерий, а также систем CRISPR-Cas, выполняющих роль иммунной системы у бактерий и обеспечивающих защиту от мобильных генетических элементов. CRISPR-Cas основана на специфичном узнавании чужеродной DNA или RNA за счет спаривания с короткими (32–35 нуклеотидов) гидовыми RNA, генерируемыми CRISPR-массивом, с последующим разрезанием целевой последовательности нуклеазой, кодируемой генами *cas*. Высокая специфичность систем CRISPR-Cas и возможность их нацеливания на гены антибиотикорезистентности обосновывают их использование в качестве новых антимикробных препаратов, позволяющих атаковать непосредственно гены антибиотикорезистентности и нежелательные патогенные бактерии, не затрагивая других представителей микробиома. Гидовые RNA или CRISPR-RNA (crRNA), нацеленные на генетические детерминанты факторов вирулентности, антибиотикорезистентности или на существенные хромосомные гены патогенных бактерий, разрабатываются на базе ФБУН ГНЦ ПМБ для представителей группы ESKAPE.

Кроме того, CRISPR-Cas-системы могут использоваться для высокочувствительной диагностики – выявления генов резистентности. В настоящее время в мире ведутся разработки тест-систем на основе сочетания CRISPR-Cas и аптамеров. Аптамеры – фрагменты ДНК, специфичные к мишеням и отобранные методами высокопроизводительного скрининга *in vitro* из библиотек олигонуклеотидов, – отличаются тем, что чувствительность при их применении превышает методы детекции на основе антител, они не зависят от иммуногенности мишени, хорошо хранятся. В ГНЦ ПМБ были разработаны аптамеры для выявления *E. coli* O157:H7, ботулотоксина и шига-токсина, поэтому владение технологией получения молекул данной группы позволяет рассчитывать на их использование в борьбе с антибиотикорезистентностью не только в диагностическом, но и в лечебном плане.

Анализируя сегодняшнее состояние проблемы, следует выделить основные направления в решении проблемы лекарственной устойчивости научными методами.

В России отмечается крайне недостаточное количество финансируемых научных программ и грантов, касающихся решения проблемы резистентности патогенов. Соответствующие тематики необходимо включать во все финансируемые программы по фундаментальным и прикладным исследованиям в области инфекционной патологии.

Исследования по мониторингу распространения резистентных штаммов в стране или даже распространения детерминант резистентности, в конечном счете, не дают ощутимого результата для решения проблемы. Нет обобщающих результатов для определения страте-

гии борьбы. Следует централизовать исследования генотипа и фенотипа клинических штаммов в рамках создания «Национального интерактивного каталога патогенных микроорганизмов и биотоксинов». Это позволит целенаправленно создавать диагностические наборы с учетом циркулирующих в данном регионе устойчивых штаммов.

Отсутствуют экспресс-тест-системы отечественного производства для быстрого определения у выделенных патогенов спектра резистентности и принятия решения о терапии. Такие импортные системы существуют только в крупных клинических лабораториях и только в крупных городах. Необходимы вложения в разработки и организацию массовых производств быстрых тестов для выявления резистентности по минимальной подавляющей концентрации антибиотиков и определения генов резистентности.

Разработки новых антибиотиков практически не ведутся, а выпускаются в основном дженерики, новые препараты только импортного производства. Необходимо участие промышленных партнеров в целевом финансировании разработок, испытаний и внедрении в производство инновационных антимикробных препаратов, основанных на новых, отличных от антибиотиков принципов действия.

Решение проблемы резистентности лежит в сфере проведения интенсивных фундаментальных исследований в области изучения на молекулярно-генетическом уровне взаимоотношений патоген–хозяин, исследования значения стрессовых реакций микробных популяций в развитии резистентности, выяснения механизмов образования дормантных форм патогенов, механизмов формирования биопленок. Эти научные данные должны являться основой для создания целевых препаратов, направленных на определенные звенья метаболизма патогенов с использованием методов обратной генетики или комбинаторной химии, а также генетического редактирования.

*Директор ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора, академик РАН
И.А.Дятлов*