

Белова Е.О.

Биопленочные инфекции в педиатрии*ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России**Научный руководитель: к.б.н. Аллянова М.С.***Резюме**

Проблема существования бактерий в составе биопленок и их патогенетические свойства известны давно, но только последние годы благодаря созданию новых методов диагностики в медицине исследованию данной проблемы стало уделяться большое внимание. Особенно остро эта проблема затрагивает все без исключения детские отделения, где уровень заболеваемости и этиологическая структура возникающих случаев биопленочных инфекций зависит от типа отделения. Накопленные к настоящему времени знания о патогенных бактериях, способных формировать биоплёнки позволили взглянуть на них с позиций поведения многоклеточных организмов, что по существу изменило наши представления о их функционировании и патофизиологических процессах протекающих внутри организма детей и создают существенную проблему в диагностике и лечении.

Ключевые слова: биопленки, биопленочные инфекции, матрикс, антибактериальная устойчивость, плазмиды бактерий

Введение

Для бактерий, входящих в состав биопленок, характерно социальное поведение. Изучение биопленок и сигнальных генетических систем, регулирующих их формирование направлено на поиск мер профилактики и защиты от патогенных микроорганизмов, создание новых классов антибактериальных препаратов. Одним из ключевых структурных компонентов биопленок является внеклеточное полимерное вещество, или матрикс, который состоит из смеси таких компонентов, как экзополисахариды (ЭПС), играющие, по-видимому, различные роли в структуре и функциях биопленочных сообществ в зависимости от условия окружения. Одна из важнейших функций экзополимерного матрикса – обеспечение защиты бактерий от различных стрессовых ситуаций, возникающих в окружающей среде. Атрибутами биопленок являются: микробные клетки, внеклеточный матрикс микробного происхождения, состоящий из дериватов окружающей среды, в том числе дериватов клеток/тканей человека, поверхности, разделяющей среды с разными свойствами[1], [3].

В развитии биопленок выделяют несколько важных этапов. Первый этап – формирование. Второй этап – окончательное (необратимое) прикрепление. Третий этап – созревание. Четвёртый этап – рост. Пятый этап – дисперсия (выброс, распространение) биоплёнки. (Подробнее в статье: «Биопленочные инфекции», ID: 2017-01-1003-A-11013) Отделившиеся от биоплёнки клетки приобретают характерные для неё свойства. Это приводит к распространению инфекции, захвату патогенными бактериями новых мест обитания. Биопленки могут распространять бактерии, резистентные к антибиотикам, что представляет серьёзную медицинскую проблему, так как существенно затрудняют терапию, значительно повышают её стоимость и приводят к росту летальности. [2]

Факторы резистентности бактерий, образующих биопленки

Развитие биопленок – сложный высоко регулируемый генетически запрограммированный процесс, что существенно сказывается на их устойчивости к широкому спектру антибактериальных препаратов и высокую адаптационную активность к дезинфицирующим средствам. Повышенная резистентность биопленочных бактерий к стрессовым воздействиям, к которым также относятся антибиотики, обусловлена рядом факторов: а) снижением проникновения внутрь биопленки антибактериальных препаратов; б) различиями в метаболической активности клеток бактерий, образующих биопленку; в) фенотипической вариабельностью клеток внутри биопленки. Существуют также генетические факторы, ответственные за уровень устойчивости биопленочных бактерий к стрессовым факторам по сравнению с планктонными клетками. Выделяют две категории генетических механизмов резистентности к антибиотикам у бактерий в биоплёнках – природные (естественные) и индуцированные (приобретённые) факторы [6]. Природные факторы включают снижение диффузии антибиотиков через матрикс биоплёнки, снижение поступления кислорода и питательных веществ, которое сопровождается изменением метаболической активности и формированием клеток-персистеров, а также синтез специфических молекул. Индуцированные факторы сопротивления запускаются молекулой антибиотика и обладают большой вариабельностью. Внешний слой бактерий под воздействием достаточной концентрации антибиотика и ограниченным временем для адаптации быстро погибает. Вокруг бактерий, находящихся в нижнем глубинном слое биоплёнки, концентрация антибиотика значительно ниже, что индуцирует экспрессию специфических генов. Так, мутация в гене *ndvB* делает биопленки, образуемые *Pseudomonas aeruginosa*, более чем на порядок чувствительнее по сравнению со штаммом дикого типа. Причем показано, что ген *ndvB* экспрессируется только биопленочными клетками и ответствен за синтез периплазматических циклических гликанов. В образовании биопленки и устойчивости к антибиотикам принимает участие также ген *rvrR*, кодирующий регулятор транскрипции ряда генов. Из проб, взятых от больных кистозным фиброзом легких, были выделены мутанты с повреждениями в этом гене, образующие мелкие шероховатые колонии и отличающиеся гипертрофированной способностью образовывать биопленки и устойчивостью к антибиотикам. На устойчивость к антибиотикам у кишечной палочки оказывают влияние F-плазмиды и ряд других конъюгативных плазмид, кодирующих антиген, гомологичный антигену. Все вышесказанное свидетельствует о необходимости более детального исследования процессов формирования биопленок, чтобы разрабатывать новые стратегии борьбы с биопленочными инфекциями.

Биопленки в медицине

Способность бактерий формировать биоплёнки наблюдается во всех сферах жизнедеятельности человека, в связи с этим биоплёнки разделяются на природные, техногенные и медицинские. Последние интересуют нас в большей степени. Медицинские биоплёнки формируются в различных органах человека, в условиях стационаров (особенно важно, так как в формировании госпитальных штаммов доказана главная роль биопленкообразующих бактерий) – на медицинском оборудовании и инструментах, в резиновых и пластмассовых дренажных трубках, в катетерах и на других изделиях медицинского назначения, применяемых в хирургии, урологии, гематологии и т. д. Эти объекты неизбежно подвергаются колонизации экзогенными и эндогенными бактериями, образуя на них стабильные сообщества. Рассмотрим некоторые примеры заболеваний детей, для возбудителей которых характерно образование биопленок.

Очень часты биопленочные инфекции желудочно-кишечного тракта у детей с реактивным артритом. Реактивный артрит – заболевание, которое характеризуется воспалительным поражением суставов, ассоциированным с триггерной инфекцией у генетически предрасположенных лиц [7]. Также в качестве одного из патогенетических механизмов формирования аутоиммунной патологии с поражением суставов рассматриваются нарушения состояния кишечного микробиома [8], гомеостаз которого обеспечивается различными факторами, включая межмикробные взаимодействия с формированием биопленок [9]. Трудно поддаются лечению антимикробными средствами и пробиотиками из-за неспособности дезорганизовать бактериальную биопленку ассоциантов – возбудителей воспалительного процесса. В этом случае наблюдается хронизация и рецидивирующее течение инфекционного процесса, требующие индивидуальной этиотропной терапии и коррекции нарушений нормальной микрофлоры больного [10]. В одной из российских клиник проводили оценку состояния кишечного микробиоценоза в соответствии с наличием/отсутствием у детей реактивного артрита.

При анализе полученных данных отмечали следующие особенности: было выявлено достоверное снижение уровня БПО у штаммов бифидобактерий, являющихся представителями доминантной микрофлоры кишечного микросимбиоза, у детей с РеА. Показатель БПО бифидобактерий, выделенных от детей с РеА, оказался на 63% ниже по сравнению с аналогичным показателем у здоровых детей.

Данные последних исследований свидетельствуют о значимой роли микроорганизмов, образующих биопленки, в развитии хронической ЛОР-патологии. Наибольшая доказательная база роли биопленок на сегодняшний день имеется в отношении хронического среднего отита, хронических аденонозилитов и хронических риносинуситов. С учетом накопленного материала оториноларингологических исследований становится очевидно, что именно биопленки обуславливают персистенцию основных патогенных бактерий, снижая эффективность медикаментозной санации очага инфекции при хронической ЛОР-патологии. Наиболее важными бактериальными возбудителями тонзиллита являются стрептококки, чаще всего – *Streptococcus pyogenes*. В 2003 г. Chole R.A. et al. впервые установили наличие смешанных биоплёнок на миндалинах у больных хроническим тонзиллитом. В этом эксперименте изучались образцы миндалин, взятых у больных хроническим тонзиллитом после их хирургического удаления – тонзилэктомии. Гистологическими методами с помощью световой микроскопии на миндалинах были обнаружены скопления различных грамположительных и грамотрицательных бактерий. Больше всего бактерий было обнаружено на особых углублениях миндалин – криптах. Применяя трансмиссионную электронную микроскопию было показано, что ультраструктура этих скоплений бактерий сходна с ультраструктурой типичных биоплёнок, при этом был выявлен аморфный матрикс [12].

Доказано, что на широко применяемых в современной медицине катетерах, имплантатах из полимерных материалов, зондах, стентах, интубационных трубках, контактных линзах и других материалах практически всегда формируются микробные биопленки. В кардиологии и кардиохирургии с биопленками ассоциируются прежде всего такие заболевания, как инфекционный эндокардит, при котором биопленки располагаются на собственных клапанах пациентов, инфекционный эндокардит (биопленки на протезных клапанах либо других имплантатах), катетер-ассоциированная инфекция. Биопленки на сердечных клапанах могут вызывать повреждение тканей клапана или вызывать эмболию [13]. Хирургическое внедрение протезного клапана вызывает повреждение окружающих тканей, накопление тромбоцитов и фибрина на прилегающих участках сердца и на имплантате, что облегчает процесс колонизации этих поверхностей для микроорганизмов, циркулирующих в русле кровеносных сосудов. Частота возникновения инфекционного эндокардита при постановке механических или биологических клапанов примерно одинакова и составляет, по разным оценкам, от 0.5-1% до 4% [14]. Значительно более доступны для исследователей внутривенные катетеры, и, соответственно, более подробно изучена роль биопленок в развитии катетер-ассоциированных инфекций. Микроорганизмы, образующие биопленки на катетерах – это прежде всего *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*. Колонизация катетера и формирование биопленки могут начаться уже в течение первых дней после его установки. Методами электронной микроскопии доказано наличие микробных биопленок на катетерах, причем не только в области просвета катетера, но и на внешней его стороне [15]. Предложено несколько стратегий предотвращения развития биопленок на венозных катетерах, к которым относятся использование антибактериальных мазей (например, мупироцина), уменьшение длины катетера, использование фильтров для жидкостей, поступающих в катетер, покрытие стенок просвета катетера антибактериальными препаратами [16]. Однако, на практике показано, что дополнительное применение антибактериальных агентов не обеспечивает полной защиты от такого рода инфекций.

Заключение

В настоящее время можно сделать предположение о том, что большинство длительно протекающих инфекций, возникающих как у взрослых, но чаще у детей, вызваны способностью микроорганизмов образовывать такие ассоциации, как биопленки. Поэтому можно сказать, что любая длительная инфекция (кишечная, дыхательных путей, мочевыводящих путей, слизистых) вызваны биопленками, образованными штаммами тех или иных бактерий. «Если бы нам удалось препятствовать формированию гликокаликса, в который заключены микробы, наверное, достижение цели элиминации бактерий было бы намного более реальным» (Белобородова Н.В. «Клиническое значение микробных биопленок»).

Литература

1. Чернявский В.И. Бактериальные биоплёнки и инфекции. *Annals of Mechnikov Institute*. 2013. №1. 86 с.
2. Хмель И.А. Биоплёнки бактерий и связанные с ними трудности медицинской практики.

3. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и органах хозяина.
4. Мокиенко А.В., Пушкина В.А. Биоплёнки и нозокомиальные инфекции: к оценке взаимосвязи. Вода: гигиена и экология. 2013. № 1 (1).
5. Голуб А.В. Бактериальные плёнки – новая цель терапии? Клини. микробиол. антимикроб. химиотер. 2012. Т. 14. № 1.
6. Тец Г.В. Роль внеклеточной ДНК и липидов матрикса во взаимодействии бактерий биоплёнок с антибиотиками (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2007. 23 с.
7. Детская ревматология. Атлас. Под ред. А. А. Баранова, Е. И. Алексеевой. М.: Союз педиатров России. 2009. 248 с.
8. Asquith M., Elewaut D., Lin P., Rosenbaum J. T. The role of the gut and microbes in the pathogenesis of spondyloarthritis // Best Pract. Res. Clin. Rheumatol. 2014. Vol. 28. № 5. P. 687–702.
9. Ohland C. L., Jobin C. Microbial activities and intestinal homeostasis: a delicate balance between health and disease // Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol. 2015. Vol. 1. № 1. P. 28–40.
10. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II/ Под ред. Лабинской А. С., Костюковой Н. Н., Ивановой С. М. М.: Издательство БИНОМ, 2012. 1152 с.
11. Лечащий врач № 4/2018; 56-58 с.
12. (Электронный ресурс): http://umedp.ru/articles/bakterialnye_bioplenki_v_otorinolaringologii.html
13. Ferguson, D. J. P., A. A. McColm, D. M. Ryan, and P. Acred. 1986. A morphological study of experimental staphylococcal endocarditis and aortitis. II. Interrelationship of bacteria, vegetation and cardiovascularity in established infections. Br. J. Exp. Pathol. 67:679-686
14. Douglas, J. L., and C G. Cobbs. 1992. Prosthetic valve endocarditis, p.375-396. In D. Kaye [ed.], Infective endocarditis, 2nd ed. Raven Press Ltd., New York, N.Y
15. Raad, I. 1998. Intravascular-catheter-related infections. Lancet 351:893-898.
16. Maki, D. G. 1994. Infections caused by intravascular devices used for infusion therapy: pathogenesis, prevention, and management, p. 155-212. In A. L. Bisno and F. A. Waldvogel [ed.], Infections associated with indwelling medical devices, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C