

Bacillus clausii – probiotikum rezistentní vůči antibiotikům

MUDr. Pavel Frühauf, CSc.

Klinika dětského a dorostového lékařství 1. LF UK a VFN, Praha

MUDr. Jiří Slíva, Ph.D.

Ústavy farmakologie 2. a 3. LF UK, Praha

MUDr. Helena Ambrožová, Ph.D.

Infekční klinika 2. lékařské fakulty UK a FN Na Bulovce, Praha

PharmDr. Lucie Kotlářová

Edukafarm, Praha

Častým nežádoucím účinkem podávání širokospektrých antibiotik v dětském věku je střevní dysmikrobie, která se může projevovat např. průjmem. V prevenci tohoto stavu se osvědčilo podávání některých probiotik. Pro účinnost probiotik v této indikaci je důležitá rezistence vůči antibiotikům. Z hlediska bezpečnosti je však také důležité, aby se tato rezistence nešířila z probiotika na patogenní mikroorganismy. Sporulující probiotikum *Bacillus clausii*, používané řadu let v různých indikacích včetně postantibiotických průjmů, se vyznačuje vysokou rezistencí vůči antibiotikům, která není přenosná na ostatní mikroorganismy, čímž splňuje standardní požadavky účinnosti a bezpečnosti terapie.

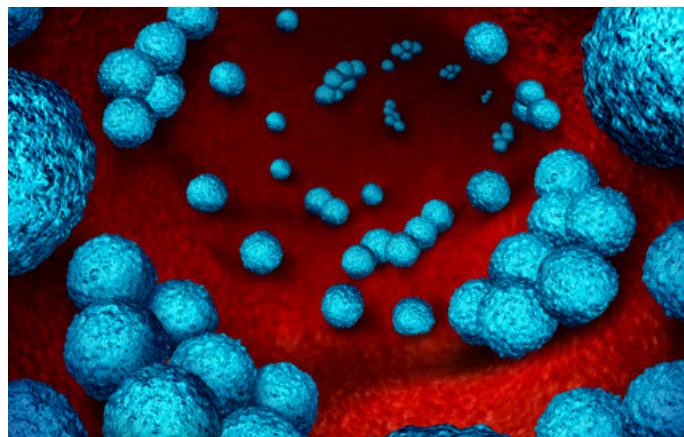
Klíčová slova: probiotika, *Bacillus clausii*, průjem spojený s podáváním antibiotik, postantibiotická dysmikrobie, rezistence vůči antibiotikům

Summary: Intestinal dysmicrobia (which could be manifested as a diarrhea) represents frequent undesirable effect of antibiotic therapy. In the management of complications associated with antibiotic therapy application of probiotics is recommended. Resistance to antibiotic therapy represents a significant precondition of effectiveness of a probiotic. Mere documentation of resistance to antibiotic is not sufficient in terms of safety profile of a probiotic strain. It should also prove non-transferable genes encoding resistance to other microorganisms. Criteria for selecting effective probiotics for prevention of complications during antibiotic treatment, are set not only on efficacy, but also security against the spread of resistance in the population. Spore-forming *Bacillus clausii* show high resistance to antibiotics that is not transferable to other microorganisms, thus meeting the standard demands on efficiency, but also safety of therapy.

Key words: probiotics, *Bacillus clausii*, diarrhea associated with antibiotic, postantibiotic complications, resistance to antibiotics

Postantibiotická dysmikrobie a probiotika

Střevní mikroflóra představuje významnou součást lidského organismu a její narušení má za následek různé zdravotní problémy, jejichž závažnost závisí na míře poruchy fyziologické mikroflóry a následném



pomnožení patogenních mikroorganismů. Při léčbě širokospektrými antibiotiky (např. po aminopenicilinech, makrolidech, cefalosporinech či chinolonech) se objevuje střevní dysmikrobie v 5–30 % případů. Projevem postantibiotické dysmikrobie jsou obvykle průjmy, které mohou mít závažný až fatální průběh. Jejich podkladem je nejčastěji postantibiotická kolitida vyvolaná toxinem *Clostridium difficile*.¹

Jak ukázala metaanalýza klinických studií, byla v rámci prevence i terapie těchto stavů prokázána prospěšnost některých probiotik.² V doporučení Evropské společnosti pro pediatrickou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN) z roku 2008 se probiotika na základě řady klinických studií, v nichž byl prokázán jejich vliv na potlačení patogenních kmenů a obnovu fyziologické mikroflóry, uvádějí jako účinný doplněk k léčbě akutních průjmových onemocnění.³ Mezi nejslibnější patří například některé kvasinky rodu *Saccharomyces* a bakterie rodu *Lactobacillus* a *Bacillus*.⁴

Pro prospěšnost aplikace probiotik v průběhu antibiotické léčby je důležitá nejen jejich účinnost, ale i rezistence zvoleného probiotika vůči užívaným antibiotikům. Jen některé z probiotických kmenů mají tuto rezistenci prokázanou a jsou přitom bezpečné i z hlediska šíření rezistence vůči antibiotikům na patogenní mikroorganismy. Třebaže se největšímu zájmu na preklinické i klinické úrovni výzkumu těší například bakterie rodu *Lactobacillus*, jako velmi zajímavé z hlediska možného využití v prevenci postantibiotické dysmikrobie se jeví bakterie rodu *Bacillus*, např. *B. subtilis*, *B. coagulans*. K významným probiotikům z této skupiny patří i *B. clausii*, který patří k nejprozkoumanějším probiotikům z hlediska rezistence vůči antibiotikům a nepřenosnosti této rezistence na patogenní mikroorganismy.

Bacillus clausii

Bacillus clausii je probiotikum široce využívané především v Itálii od 60. let 20. století pro léčbu virových průjmů a prevenci projevů postantibiotické dysmikrobie.⁵ Spóry *B. clausii* procházejí intaktním kyselým prostředím žaludku a ve střevě přecházejí ve vegetativní formy.^{6,7} Spóry i vegetativní formy *B. clausii* se vyznačují vysokou adhezivitou ke střevní sliznici, kterou

kolonizují.⁸ Významné působení *B. clausii* na patogenní mikroorganismy mapuje studie sledující inhibiční aktivitu tohoto probiotického kmene vůči širokému spektru patogenů.⁹

Rezistence vůči antibiotikům

Důležitou vlastností probiotika užívaného při antibiotické léčbě je rezistence vůči antibiotikům. V případě *B. clausii* je tato vlastnost studii *in vitro* dobře zmapována. Důležitým genem přítomným u *B. clausii* je gen kódující laktamázu BCL-1, který se shoduje s geny kódujícími penicilinázy PenP. Přítomnost těchto genů u *B. clausii* je důvodem jeho rezistence nejenom vůči penicilinovým antibiotikům, ale současně i vůči cefalosporinům.¹⁰

Je dokumentována i rezistence *B. clausii* k makrolidům – erytromycinu, spiramycinu, azithromycinu, streptograminu B a linkosamidům, jako jsou linkomycin či klindamycin.¹¹

Pro bezpečnost užití probiotik je důležité, aby se rezistence vůči antibiotiku nešířila přenosem genů na patogenní mikroorganismy. V případě *B. clausii* ani při opakované snaze přenést cestou konjugace gen *erm*, který je označován za klíčový pro rezistenci vůči antibiotikům působícím na ribozomální úrovni, nedošlo k přenosu rezistence na žádný ze studovaných mikroorganismů (např. *Enterococcus faecalis*).¹¹

Zatímco v případě rezistence *B. clausii* vůči makrolidům či linkosamidům se uplatňuje gen *erm*, v rezistenci k aminoglykosidům se uplatňuje enzym kódovaný genem *aadD2*. V práci, v níž byla prokázána rezistence *B. clausii* ke kanamycinu, tobramycinu a amikacinu, autoři zdůrazňují, že tento gen nebyl přenosný na testované patogenní mikroorganismy.¹²

Klonováním bylo dále zjištěno, že *B. clausii* obsahuje ve svém genomu rovněž gen pro chloramfenikol acetyltransferázu, *cat(Bcl)*, jejíž struktura byla z 85 % identická s týmž enzymem pocházejícím z gram-pozitivních bakteriálních kmenů. Jedná se o enzym, který inaktivuje chloramfenikol cestou jeho acetylace. I v tomto případě nebyl přenosný tento gen z *B. clausii* na ostatní mikroorganismy.¹³



Bakteriociny – inhibitory růstu patogenních bakterií

Při hodnocení účinnosti probiotických mikroorganismů v prevenci střevní dysmikrobie je důležitá schopnost inhibovat růst patogenních bakterií, čehož se dosahuje nejrůznějšími mechanismy. Jedním z nich je schopnost produkce látek s antimikrobiálním účinkem, jakými jsou např. bakteriociny. Jednou z podskupin bakteriocinů jsou tzv. lantibiotika – antimikrobiální látky syntetizované na ribozomech probiotických mikroorganismů. Tyto látky

produkuje i *B. clausii*. Část lantibiotik vyvolává vznik pórů v cytoplazmatické membráně gram-pozitivních bakterií, což vede k bakteriolýze. Jiná lantibiotika jsou namířena proti peptidoglykanům, které tvoří strukturální síť složenou z disacharidových jednotek, navzájem spojených peptidovými řetězci. Peptidoglykanová síť umožňuje bakteriální buňce odolávat lýze díky udržování osmotického gradientu bakterie oproti vnějšímu prostředí. Clausin a další lantibiotika produkovaná *B. clausii* interferují se syntézou prekurzorů peptidoglykanů a tím inhibují růst patogenních bakterií.¹⁴

Závěr

Probiotika mají v prevenci postantibiotických dysmikrobií důležité místo. Probiotický kmen *Bacillus clausii*, používaný již řadu desetiletí v Itálii k léčbě virových průjmů a postantibiotických dysmikrobií, disponuje nejen rezistencí vůči většině běžně podávaných antibiotik, ale i schopností inhibovat růst řady jiných, patogenních mikroorganismů. Z hlediska bezpečnosti hraje důležitou roli skutečnost, že zmíněná odolnost vůči antibiotikům není vázána plazmidově, ale chromozomálně, což znemožňuje transfer odpovídajících genů do populace patogenních mikroorganismů. Tyto vlastnosti jsou výhodné pro probiotickou léčbu postantibiotických dysmikrobií.

Literatura

- Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol* 2011;4:185-97.
- Szajewska H, Rusczyński M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic associated diarrhoea in children; a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr*. 2006;149:367-372.
- Guarino A. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: executive summary. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46:619-621.
- Johnston BC, Supina AL, et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, Issue 2. Art. No.: CD004827. DOI: 10.1002/14651858.CD004827.pub2.
- Benoni G, Marcer V, Cuzzolin L, et al. Antibiotic administration and oral bacterial therapy in infants. *Chemioterapia* 1984;3:291-4.
- Ciffo F, Da Carlo C, Giovannetti M. Gastric resistance of *Bacillus subtilis* spores used in oral bacteriotherapy: in vitro studies. *Farmacia e terapia* 1987;3:163-169.
- Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:586-90.
- Angioi A, Zanetti S, Sanna A. Adhesiveness of *Bacillus subtilis* strains to epithelial cells cultured in vitro. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1995;8:71-77.
- Urdaci MC. *Bacillus clausii* probiotic strains antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol* 2004;38(suppl 2):86-90.
- Girlich D, Leclercq R, Naas T, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of the chromosome-encoded class A beta-lactamase BCL-1 from *Bacillus clausii*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2007;51:4009-4014.
- Bozdogan B, Galopin S, Leclercq R. Characterization of a new *erm*-related macrolide resistance gene present in probiotic strains of *Bacillus clausii*. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:280-284.
- Bozdogan B, Galopin S, Gerbaud G, et al. Chromosomal *aadD2* encodes an aminoglycoside nucleotidyltransferase in *Bacillus clausii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1343-1346.
- Galopin S, Cattoir V, Leclercq R. A chromosomal chloramphenicol acetyltransferase determinant from a probiotic strain of *Bacillus clausii*. *FEMS Microbiol Lett* 2009;296:185-189.
- Bouhss A, Al Dabbagh B, Vincent M et al. Specific interactions of clausin, a new lantibiotic, with lipid precursors of the bacterial cell wall. *Biophys J* 2009;97:1390-1397.