

VÝZNAM PROBIOTIKA *BACILLUS CLAUSII* BĚHEM ANTIBIOTICKÉ TERAPIE

PROBIOTIKA

Probiotika jsou podle definice Organizace pro výživu a zemědělství (FAO), Organizace spojených národů a Světové zdravotnické organizace živé mikroorganismy, které při podávání v přiměřeném množství přinášejí zdravotní prospěch hostiteli.

Jedná se buď o monokultury, nebo o smíšené kultury (až 9 kmenů) nepatogenních živých mikroorganismů obvykle lidského původu, které příznivě ovlivňují zdravotní stav hostitele zlepšením jeho střevní mikroflóry. Nejvíce používanými probiotiky jsou laktobacily a bifidobakterie, dobré zkušenosti jsou i s kvasinkou *Saccharomyces boulardii*. Mezi probiotika se však řadí i některé koky (enterokoky a streptokoky), gramnegativní tyčinky (*Escherichia coli* kmen Nissle) a také sporulující bacily.

GASTROENTEROLOGICKÉ INDIKACE PRO PROBIOTIKA

S probiotiky byla ve světě prováděna řada klinických studií jak v prevenci, tak v léčbě některých onemocnění gastrointestinálního a urogenitálního traktu i alergických onemocnění. Výsledky nebyly vždy jednoznačné, asi nejlepšího účinku dosahují probiotika v léčbě či prevenci různých poruch gastrointestinálního traktu. Vedle ulcerózní kolitidy, divertikulózy, syndromu dráždivého tračníku, intolerance laktózy a infekce *Helicobacter pylori* jsou nejčastější gastroenterologickou indikací průjemová onemocnění. Probiotika lze podat u akutního průjmu, dále u průjmu po antibioticích, u postantibiotické kolitidy vyvolané *Clostridium difficile* či u průjmu cestovatelů. Podle Evropské společnosti pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN) jsou probiotika možným účinným doplňkem v léčbě akutního průjmu.¹ Dobu onemocnění zkracují o 17–30 hodin,² přičemž účinek závisí na včasném podání, výši dávky i na použitém probiotiku. Účinnější jsou vyšší dávky (10^{8-10} kolonií CFU).

PROBIOTIKA A PRŮJEM

Probiotika se osvědčila zejména u gastroenteritid virového původu, prakticky neúčinná byla u enterokolitid vyvolaných invazivními patogeny. Průjem cestovatelů se objevuje u 40–50% lidí cestujících z vyspělých zemí do zemí rozvojových. Jeho etiologie je větší

MUDr. Jiří Slíva
Ústavy farmakologie 2. a 3. LF UK, Praha
MUDr. Helena Ambrožová
I. infekční klinika 2. lékařské fakulty UK
a FN Na Bulovce, Praha
Mgr. Lucie Kotlářová
Edukafarm, Praha

nou bakteriální, více než polovinu případů vyvolávají enterotoxické kmeny *Escherichia coli*. Preventivní podávání probiotik v této indikaci bylo hodnoceno jako úspěšné.³

VÝZNAM PROBIOTIK BĚHEM PODÁVÁNÍ ANTIBIOTIK

U průmů po antibiotické terapii se může jednat buď o prostou dysmikrobii, nebo o postantibiotickou kolitidu vyvolanou obvykle toxiny *Clostridium difficile* či vzácně toxinem *Staphylococcus pyogenes aureus*. Dysmikrobie se objevuje asi v 5–30% např. po aminopenicilínech, makrolidech, cefalosporínech či chinolonech. Podání probiotik bylo úspěšné jak v terapii, tak v prevenci.⁴ Postantibiotická kolitida vyvolaná toxinem *Clostridium difficile* vzniká hlavně po fluorochinolonech, cefalosporínech, clindamycinu či širokospektrých penicilínech. Postihuje častěji dospělé než děti a může mít závažný až fatální průběh. Může se jednat o endogenní i exogenní nákazu (často nozokomiální), infekční dávka je velmi malá a onemocnění se rozvine 3–30 dnů po infekci. V klinickém obraze převažuje hemoragická kolitida, často s afebrilním průběhem. Onemocnění inklinuje i při správné léčbě k častým relapsům. Probiotika byla úspěšná jako součást komplexní léčby, výsledky preventivního podávání byly nejednoznačné.⁵

BAKTERIE RODU *BACILLUS*

Třebaže se největšímu zájmu na preklinické i klinické úrovni výzkumu těší bakterie rodu *Lactobacillus* či *Bifidobacterium*, jako velmi zajímavé z hlediska možného využití se jeví bakterie rodu *Bacillus* – *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. toyoi* (*cereus*), *B. natto* (*stibtilis*), *B. polyfermentans* nebo *B. clausii*.

BAKTERIOCINY

Při hodnocení terapeutického potenciálu konkrétního probiotického kmene, rodu či druhu je nezbytné současně přihlížet k jeho

schopnosti inhibovat růst jiných bakterií, čehož je dosahováno nejrůznějšími mechanismy. Jedním z nich je schopnost produkce látek s antimikrobiálním účinkem, jakými jsou např. organické kyseliny, peroxid vodíku či tzv. bakteriociny.

Takzvaná lantibiotika (I. třída bakteriocinů) jsou peptidy kódované strukturálními geny a syntetizované na ribosomech. Následně podstupují posttranslační úpravy, které jsou zodpovědné za začlenění thioéterových (např. lanthionin či B-methylanthionin) nebo dehydratovaných aminokyselin (dehydroalanin a dehydrobutyrin) do jejich řetězce, respektive thioéterových cyklů. Velká část lantibiotik je namířena proti peptidoglykanlipidům, jiné, jako např. nisin, vyvolávají vznik póřů v cytoplazmatické membráně grampozitivních bakterií, což v konečném důsledku může vést k bakteriolyze.

Připomeňme, že bakteriální peptidoglykan vytváří síť složenou z N-acetylglukosaminyl-p-1,4-N-acetylmuramyl disacharidových jednotek, navzájem spojených právě peptidovými řetězci. Takováto struktura umožňuje bakteriální buňce odolávat lýze z důvodu přítomného osmotického gradientu v porovnání s vnějším prostředím. Syntéza peptidoglykanu probíhá ve třech krocích: 1. syntéza nukleotidových prekurzorů UDP-GlcNAc a UDP-MurNAc-pentapeptid uvnitř cytoplazmy; 2. na membránu vázané enzymy MraY a MurG dávají vzniknout undekaprenyl-pyrophosphoryl-MurNAc-pentapeptidu (lipid I) a undekaprenyl-pyrophosphoryl-MurNAc-(pentapeptid)-GlcNAc (lipid II); 3. polymerizace glykosyltransferázami a transpeptidázami s přemístěním na vnější stranu cytoplazmatické membrány.

Nově popisovaná lantibiotika, jakým je např. clausin, jsou schopna výrazně interferovat se syntézou výše zmíněných prekurzorů a de facto tak přímo ovlivňovat životaschopnost řady mikroorganismů. Clausin je tvořen bakterií *Bacillus clausii*, přičemž nejméně ze 75% má obdobné sekvence jako mutacin-1140 a pouze kolem 30% identických sekvencí s nisinem.

V recentní studii bylo zjištěno, že clausin významně interaguje s undekaprenylpyrofosfát-GlcNAc, na základě čehož je možné odvodit interakce i s komponentami buněčné stěny, jakou je např. teichoová kyselina u grampozitivních bakterií.⁶

REZISTENCE BACILLUS CLAUSII

Spóry *Bacillus* spp. jsou mimo jiné podobně jako ostatní probiotika užívány v prevenci gastrointestinálních obtíží vzniklých v důsledku podávání širokospektrých antibiotik s cílem restaurovat poškozenou střevní mikroflóru. Zcela logicky však vyvstává otázka, do jaké míry je přítomným antibiotikem ovlivněna životaschopnost samotného probiotika, které by tedy mělo zůstat antibiotikem víceméně neovlivněno. Rezistence je tak velmi aktuálním tématem, jemuž se věnovala řada studií.

Dobře popsána je tak např. rezistence *B. clausii* k erythromycinu, respektive makrolidům. Nejen že při difuzi diskem nedošlo k vytvoření inhibiční zóny u erythromycinu, ale ta se nevytvořila ani v případě spiramycinu, azithromycinu nebo streptograminu B a linkosamidů, jako jsou linkomycin či klindamycin (kmeny DSM8716, ATCC 21536 a ATCC 21537).⁷

Z hlediska racionální farmakoterapie je však nutné položit si i další otázku týkající se možného přenosu genů, jež by mohly za rezistenci zodpovídat u různých bakteriálních druhů. Avšak ani při opakované snaze přenést cestou konjugace gen *erm* (34) (846 bp), který je označován za klíčový pro rezistenci vůči antibiotikům působícím na ribosomální úrovni, nedošlo k přenosu rezistence na žádný ze studovaných mikroorganismů (*Enterococcus faecalis* JH2-2, *E. faecium* HM1070 a *B. subtilis* UCN19) [2].

Zatímco v případě rezistence vůči makrolidům či linkosamidům se uplatňuje gen *erm*, v prostředí aminoglykosidů byla nedávno popsána existence enzymu kódovaného také genem *aadD2*, lokalizovaným rovněž na chromosomu. Konkrétně se jednalo o rezistenci ke kanamycinu, tobramycinu a amikacinu. Autoři ve své studii zdůrazňují, že tento gen nebyl transferabilní v rámci konjugace mezi ostatní, již výše zmíněné mikroorganismy.⁸

Klonováním bylo dále zjištěno, že *B. clausii* obsahuje ve svém genomu rovněž gen pro chloramfenikol acetyltransferázu, *cat*(*Bcl*), jejíž struktura byla ze 31–85% identická s tímž enzymem pocházejícím z gram-pozitivních bakteriálních kmenů. Připomeňme, že se jedná o enzym, který inaktivuje chloramfenikol cestou jeho acetylace a převážně je lokalizovaný v transferabilních plazmidech. I v tomto případě selhaly veškeré snahy o přenos tohoto genu při konjugaci na ostatní mikroorganismy, což opět svědčí pro jeho chromosomální lokalizaci.⁹

V neposlední řadě zmiňme ještě alespoň gen původně izolovaný z *Escherichia coli*, kódující laktamázu BCL-1, který vykazuje podobnost s geny kódujícími penicilinázy PenP, pocházející od *B. clausii* KSM-K16 a *Bacillus licheniformis*. Přítomnost genů pro penicilinázy v tomto probiotickém kmeni de facto předurčuje jeho odolnost nejen vůči penicilinovým antibiotikům, ale současně i vůči cefalosporinům s úzkým spektrem účinku či cefpiromu. Konkrétní gen *blaBCL-1* byl lokalizován v blízkosti již výše popsaných genů *aadD2* a *erm34*.¹⁰

OVLIVNĚNÍ GENOTOXINŮ

Bacillus clausii, podobně jako ostatní probiotika, disponuje schopností ovlivnit produkci řady cytokinů v lidském střevě, a působit tak do určité míry jako imunomodulancium. Odhlédneme-li od této problematiky, naši pozornosti by jistě neměla uniknout recentně publikovaná studie uspořádaná s cílem sledovat vztah mezi *B. clausii* a genotoxickým působením řady látek (nitroareny, nitrosaminy, mykotoxiny, alkylancia aj.), jejichž přítomnost může vést k nastartování procesu kancerogeneze. Schopnost bakteriálních buněk ovlivňovat tento proces je dána řadou možných dějů, ze kterých zmiňme zejména schopnost vazby konkrétní látky se strukturami buněčné stěny či reakce s buněčnými metabolity ve smyslu jejich biokonverze na neaktivní látky.^{11,12}

Právě v recentní studii byl zjištěn inhibiční vliv celkem 21 kmenů rodu *Bacillus*, včetně *B. clausii*, vůči 4-nitrochinolin-1-oxidu, N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidinu, 2-amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]chinolinu a aflatoxinu B1.¹³ Toto pozorování pouze dokresluje význam probiotik v současné medicíně a naznačuje jasný trend v základním i aplikovaném výzkumu probiotik.

ZÁVĚR

Probiotický kmen *Bacillus clausii* disponuje nejen schopností inhibovat růst řady ostatních mikroorganismů, povětšinou patogenních, ale současně i rezistencí vůči většině běžně podávaných antibiotik. Z hlediska bezpečnosti hraje důležitou roli skutečnost, že zmíněná odolnost vůči antibiotikům není vázána plazmidově, ale chromosomálně, což výrazně redukuje, respektive znemožňuje transfer odpovídajících genů do populace jiných mikroorganismů, pro náš organismus patogenních.

Literatura

1. Guarino A, Albano F, Askhenazi S, et al. 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. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 2008;46:81–122
2. Nevorál J. Probiotika a jejich klinické užití. *Postgrad Med* 2009;11:14–23
3. McFarland LV. Meta-analysis of probiotics for the prevention of traveler's diarrhoea. *Travel Med Infect Dis* 2007;2:97–105
4. Vanderhoof JA, Whitney DB, Anderson DL, et al. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children. *J Pediatr* 1999;135:564–568
5. Surawicz CM. Role of probiotics in antibiotic-associated diarrhoea. *J Clin Gastroenterol* 2008;42:64–70
6. 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.
7. 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.
8. Bozdogan B, Galopin S, Gerbaud G, Courvalin P, Leclercq R. Chromosomal *aadD2* encodes an aminoglycoside nucleotidyltransferase in *Bacillus clausii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1343–1346.
9. 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.
10. 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.
11. Orrhage KM, Annas A, Nord CE, Brittebo EB, Rafter JJ. Effects of lactic acid bacteria on the uptake and distribution of the food mutagen Trp-P-2 in mice. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:215–221.
12. Cenci G, Trotta F, Caldini G. Tolerance to challenges miming gastrointestinal transit by spores and vegetative cells of *Bacillus clausii*. *J Appl Microbiol* 2006;101:1208–1215.
13. Cenci G, Caldini G, Trotta F, Bosi P. In vitro inhibitory activity of probiotic spore-forming bacilli against genotoxins. *Lett Appl Microbiol* 2008;46:331–337.



Farmaceutické a medicínské novinky ve vašem e-mailu

Terapeutické přehledy, nová léčiva, studie apod. ze serveru EDUKAFARM.cz

Máte-li zájem o tuto službu, vyplňte prosím svoji e-mailovou adresu na webových stránkách www.edukafarm.cz do okénka nadepsaného „Novinky do mailu“ na prave straně stránky a odešlete stisknutím tlačítka „go“.

