

# BACILLUS CLAUSII – PROBIOTIKUM REZISTENTNÍ VŮČI ANTIBIOTIKŮM

MUDR. PAVEL FRÜHAUF, CSc.<sup>1)</sup>, MUDR. JIŘÍ SLÍVA, PHD.<sup>2)</sup>,  
MUDR. HELENA AMBROŽOVÁ, PHD.<sup>3)</sup>, PHARM. DR. LUCIE KOTLÁŘOVÁ<sup>4)</sup>

1) KLINIKA DĚTSKÉHO A DOROSTOVÉHO LÉKAŘSTVÍ 1. LF UK A VFN, PRAHA, 2) ÚSTAVY FARMAKOLOGIE 2. A 3. LF UK, PRAHA,

3) INFEKČNÍ KLINIKA 2. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UK A FN NA BULOVCE, PRAHA, 4) EDUKAFARM, PRAHA

**Včastým nežádoucím účinkem podávání širokospektrých antibiotik v dětském věku je střevní dysmikrobie, která se může projevat 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. Sporující 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.**

## 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 aminopenicilínech, makrolidech, cefalosporínech 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*.<sup>1</sup>

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

## BACILLUS CLAUSII

### Charakteristika

*Bacillus clausii* je probiotikum široce využívané především v Itálii od 60. let 20. století pro léčbu virových průjmů a prevenci projevů

postantibiotické dysmikrobie.<sup>5</sup> Spóry *B. clausii* procházejí intaktní kyselým prostředím žaludku a ve střevě přecházejí ve vegetativní formy.<sup>6,7</sup> Spóry i vegetativní formy *B. clausii* se vyznačují vysokou adhezivitou ke střevní sliznici, kterou kolonizují.<sup>8</sup> Významné působení *B. clausii* na patogenní mikroorganismy mapuje studie sledující inhibiční aktivitu tohoto probiotického kmene vůči širokému spektru patogenů.<sup>9</sup>

### Rezistence vůči antibiotikům

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

Je dokumentována i rezistence *B. clausii* k makrolidům – erytromycinu, spiramycinu, azithromycinu, streptograminu B a linkosamidům, jako jsou linkomycin či clindamycin.<sup>11</sup>

Pro bezpečnost užití probiotik je důležité, aby se rezistence vůči antibiotikům 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 ribosomální úrovni, nedošlo k přenosu rezistence na žádný ze studovaných mikroorganismů (např. *Enterococcus faecalis*).<sup>11</sup>

Zatímco v případě rezistence *B. clausii* vůči makrolidům či linkosamidům se uplatňuje gen *erm*, v rezistenci vůči 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.<sup>12</sup>

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 tímž 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.<sup>13</sup>

## BAKTERIOCINY – INHIBITORY RŮSTU PATOGENNÍCH BAKTERIÍ

Při hodnocení účinnosti probiotických mikroorganismů v prevenci střevní dysmikrobie je důležitá schopnost inhibovat růst patogenních bakterií, čehož je dosahováno nejrůznějšími mechanismy. Jedním z nich je schopnost produkce látek s antimikrobiálním účinkem, jakými jsou např. bakteriociny. Jednou z podskupin bakteriocinů jsou tzv. lantobiotika – antimikrobiální látky, syntetizované na ribosomech probiotických mikroorganismů. Tyto látky produkuje i *B. clausii*. Část lantobiotik vyvolává vznik pórů v cytoplazmatické membráně gram pozitivních bakterií, což vede k bakteriolyze. Jiná lantobiotika 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 lantobiotika produkovaná *B. clausii* interferují se syntézou prekursorů peptidoglykanů a tím inhibují růst patogenních bakterií.<sup>14</sup>

## 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 anti-

biotikům není vázána plazmidově, ale chromosómně, což znemožňuje transfer odpovídajících genů do populace patogenních mikroorganismů. Tyto vlastnosti jsou výhodné pro probiotickou léčbu postantibiotických dysmikrobií.

### Literatura

1. Hickson M. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea and Clostridium difficile infection. *Therap Adv Gastroenterol* 2011;4:185-197.
2. 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.
3. 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.
4. Johnston BC, Supina AL, et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. *Cochrane Database of Syst Rev* 2007, Issue 2. Art. No.: CD004827. DOI: 10.1002/14651858.CD004827.pub2.
5. Benoni G, Marcer V, Cuzzolin L, et al. Antibiotic administration and oral bacterial therapy in infants. *Chemioterapia* 1984;3:291-4.
6. Ciffo F, Da Carro C, Giovannetti M. Gastric resistance of *Bacillus subtilis* spores used in oral bacteriotherapy: in vitro studies. *Farmacia e terapia* 1987;3:163-169.
7. Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:586-90.
8. 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.
9. Urdaci MC. *Bacillus clausii* probiotic strains antimicrobial and immunomodulatory activities. *J Clin Gastroenterol* 2004;38(suppl 2):86-90.
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. 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.
12. Bozdogan B, Galopin S, Gerbaud G, et al. Chromosomal aadD2 encodes an aminoglycoside nucleotidyltransferase in *Bacillus clausii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1343-1346.
13. 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.
14. 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.

