doi: 10.17116/terarkh20158711103-109

© Коллектив авторов, 2015

Дормантное состояние микроорганизмов и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи

А.В. ТУТЕЛЬЯН[1—3], А.М. ГАПОНОВ[1, 2, 4], В.М. ПИСАРЕВ[1, 2, 4], Г.И. ЭЛЬ-РЕГИСТАН[5]

[1]ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Россия; [2]ФГБУ «ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия; [3]ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, Москва, Россия; [4]ФГБНУ «НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского» ФАНО России, Москва, Россия; [5]ФГБУН «Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского» РАН, Москва, Россия

Microbial dormancy and prevention of healthcare-associated infections

A.V. TUTELYAN[1—3], A.M. GAPONOV[1, 2, 4], V.M. PISAREV[1, 2, 4], G.I. EL-REGISTAN[5]

[1]Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russia; [2]Dmitry Rogachev Federal Research-and-Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; [3]I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia; [4]V.A.Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Agency of Research Organizations of Russia, Moscow, Russia; [5]S.N. Vinogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Аннотация

Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), остается одной из острейших в современном здравоохранении и приобретает все большую социальную и медицинскую значимость. Особенностями течения ИСМП являются частое рецидивирование и неэффективность антибактериальной терапии, одна из причин которых — устойчивость микроорганизмов к антибиотикам. В обзоре обсуждается одна из форм антибиотикоустойчивости — антибиотикотолерантность (АР) и ее роль в развитии ИСМП. Описаны существенные отличия АР от антибиотикорезистентности на клеточном и молекулярно-генетическом уровне. Обсуждается взаимосвязь АР и состояния дормантности* у микроорганизмов — возбудителей ИСМП. Представлены данные литературы об условиях возникновения состояния АР у возбудителей ИСМП, обсуждаются вопросы диагностики подобного состояния. Кроме того, анализируются имеющиеся в литературе данные, касающиеся попыток фармакологического преодоления АР и обсуждаются новые подходы к антибактериальной терапии ИСМП.

Ключевые слова: инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, антибиотикотолерантность, антибиотикорезистентность.

Healthcare-associated infections (HCAI) remain one of the most challenges of modern health care and assume increasing social and medical significance. The specific features of HCAI are frequent recurrences and inefficiency of antibiotic therapy, a reason for which is antibiotic resistance in microorganisms. The review discusses antibiotic resistance, a form of antibiotic tolerance (AT), and its role in the development of HCAI. It also describes essential differences between AT and antibiotic tolerance at the cellular and molecular genetic levels. Relationships between AT and dormancy of microorganisms, pathogens of HCAI, are discussed. The paper gives the data available in the literature on how AT occurs in HCAI pathogens and discusses the diagnosis of this condition. It also analyzes the literature data on pharmacological attempts to overcome AT and discusses novel approaches to antibiotic therapy for HCAI.

Keywords: healthcareassociated infections, antibiotic tolerance, antibiotic resistance.

АБП — антибактериальный препарат
АБТ — антибактериальная терапия
АМП — антимикробный препарат
АОБ — алкилоксибензолы
АР — антибиотикорезистентность
АТ — антибиотикотолерантность
ИСМП — инфекционные заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи
КП I — «персистеры» I типа
КП II — «персистеры» II типа
КП — клетки-«персистеры»
СТА — система токсин—антитоксин
УПМ — условно-патогенные микроорганизмы

В настоящее время снижение инфекционной заболеваемости, связанной с оказанием медицинской помощи, — огромная, трудно решаемая проблема для всех стран мира [1]. Инфекционные осложнения, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами (УПМ), остаются существенным фактором ухудшения течения и прогноза многих заболеваний неинфекционной этиологии и опасных для жизни критических состояний.

Неэффективность антибактериальной терапии (АБТ) в отношении штаммов, которые вызывают инфекционные заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), у

*От англ. dormant — спящий, дремлющий, находящийся в состоянии покоя.

больных обусловлена развитием антибиотикорезистентности (АР) этиологически значимых штаммов УПМ к антимикробным препаратам (АМП). Широкое распространение устойчивых к АМП штаммов патогенных микроорганизмов и УПМ приводит к развитию инфекционных осложнений у пациентов разных групп, доходящих у больных со злокачественными новообразованиями до 70—80% [2, 3]. У пациентов с данной нозологией это становится основной причиной смерти. Одним из примеров является рост заболеваемости инфекцией *Clostridium deficille* в США, составляющий до 250 тыс. случаев в год [4]. При этом штаммы *C. deficille* становятся более устойчивыми к АБТ, приводя к увеличению летальности от этой инфекции (в 4 раза за период с 2000 до 2007 г.), достигающей 14 тыс. случаев в год [5]. Значительный вклад в хронизацию инфекционных болезней, в том числе ИСМП, обусловленные имплантатами или постоянным использованием устройств и изделий из пластика вносят биопленки, образуемые устойчивыми к антибиотикам бактериями [6]. Так, механическая вентиляция у больных с критическими состояниями, при которых требуется введение эндотрахеальной трубки, являясь спасающей жизнь медицинской процедурой, в то же время несет значительные риски формирования биопленок, содержащих устойчивую к антибиотикам микрофлору, вызывающую ИСМП — внутрибольничную пневмонию [7, 8]. Летальность при такой пневмонии достигает 30—70% [9—12]. Формирование устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами биопленок в послеоперационных ранах и трофических язвах встречается часто, обусловливая их длительное незаживление и риск развития тяжелого сепсиса [13, 14]. Таким образом, устойчивость к антибиотикам является серьезной проблемой, с которой сталкиваются клиницисты самого разного профиля.

Согласно существующим представлениям возникновение АР рассматривается как процесс, связанный с модификацией генома бактерий в результате спонтанных мутаций и/или модификации бактериального генома внутри- и внеклеточными мобильными элементами, а также за счет рекомбинации. Эти генетические изменения приводят к изменениям экспрессии и структуры белков, участвующих в рецепции, трансмембранном транспорте и метаболизме антибиотиков, обеспечивая выживаемость микроорганизмов в присутствии антибиотических препаратов. В рамках этой доминирующей концепции АР рассматривается как свойство вегетирующих форм микроорганизмов, проявляющих метаболическую и пролиферативную активность.

В настоящее время накоплено большое количество доказательств фенотипической гетерогенности и пластичности генетически однородной популяции бактерий, что при воздействии на нее бактерицидных доз антибиотиков обусловливает выживание малочисленной субпопуляции (0,001—1%) на фоне гибели большинства клеток [15—17]. Причиной этого феномена, впервые обнаруженного в 1942 г. при наблюдениях за гибелью культуры стафилококка, обработанной пенициллином [18], является переход малого числа генотипически чувствительных к антибиотикам клеток в фенотип выживания (персистенции) в присутствии АМП [16, 19]. В соответствии с принятой точкой зрения эти клетки, названные «персистерами» (persister — стойкая бактерия) [20], безразличны к наличию любых антибиотиков в их окружении. Впоследствии это явление устойчивости, отличное от классической АР, получило название множественной лекарственной толерантности (multidrug tolerance — MDT), или антибиотикотолерантности (АТ) [19, 21]. Выживающие «персистеры» находятся вне пролиферативного цикла в отличие от АР-клеток, несущих гены резистентности к антибиотику(ам) [22]. Другим отличием фенотипа АТ клеток-«персистеров» (КП) является их способность при пересеве в свежую среду полностью воспроизводить родительскую популяцию антибиотикочувствительных клеток, в которой также будет формироваться очень малочисленная субпопуляция КП. При пересеве в свежую среду АР-клеток в выросшей популяции все клетки сохраняют генотип АР, т.е. способности размножаться в присутствии данного антибиотика [23]. При этом в популяции генетически устойчивых АР-клеток будет присутствовать небольшая субпопуляция КП, обеспечивающих выживание популяции при действии других стрессорных факторов (антибиотиков иной природы, других факторов микроокружения).

Таким образом, основные функциональные отличия АТ от АР заключаются в том, что первая обеспечивает сохранение популяции как вида при экстремальных воздействиях, в том числе антибиотиков и лекарственных препаратов различной химической природы, а вторая определяет возможности размножения генетически приспособленных бактерий к изменившимся условиям существования (антибиотики или другие стрессоры).

Интерес к изучению покоящихся форм патогенных и условно-патогенных бактерий при различных инфекционных заболеваниях и инфекционных осложнениях соматических заболеваний резко вырос в последние годы (2012—2015 гг.). В настоящее время феномен бактериальной персистенции, обеспечивающей устойчивость инфекции к антибиотикотерапии, подтвержден для таких возбудителей, как *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycoplasma* gen*i*talium, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis, Brucella abortus* и др. [24]. Установлена роль покоящихся форм в персистенции возбудителя туберкулеза [25, 26], патогенезе ассоциированных с установкой катетера инфекций [27], развитии пневмонии, ассоциированной с муковисцидозом или легионеллезом [28], хронические инфекции мочеполовой системы [29—32], билиарного тракта [33—35], инфекции среднего уха [33]. Доказано участие персистирующих форм *H. pylori* в патогенезе гастродуоденитов и язвы желудка, двенадцатиперстной кишки [33, 36]. Показано, что образование биопленок патогенными грибами рода *Candida* обусловлено наличием КП, толерантных к противогрибковым препаратам [37]. Связь дормантности, персистенции возбудителей и пленкообразования с хроническим течением инфекций, помимо туберкулеза, отмечена в отношении *P. aeruginosa* при муковисцидозе [38—41].

Со времени открытия и широкого клинического использования антибиотиков описаны несколько форм устойчивости патогенных микроорганизмов и УПМ, не имеющих отношения к генетически обусловленной АР. К ним относятся спорообразующие организмы, КП и длительно переживающие покоящиеся формы, включая некультивируемые клетки [42], цистоподобные покоящиеся клетки [43] неспорообразующих бактерий. Все эти формы существования микроорганизмов характеризуются резким снижением метаболической и пролиферативной активности. Следствием этого состояния микроорганизмов является отсутствие чувствительности к антимикробным препаратам, получившее в литературе название АТ. Кроме самостоятельного значения покоящихся форм в формировании устойчивости бактерий к АМП, по данным литературы, АТ и развитие АР у патогенных микроорганизмов и УПМ в значительной степени взаимосвязаны [43]. Показано, что при индукции образования покоящихся форм микроорганизмов и КП, в том числе в присутствии АМП, образуются клоны с фенотипом АР. В то же время АМП могут выступать как индукторы состояния покоя у бактерий.

Сведения об авторах:

Гапонов Андрей Михайлович — к.м.н., зав. лабораторией инфекционной иммунологии ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева

Писарев Владимир Митрофанович — д.м.н., проф., зав. лаб. молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского

Эль-Регистан Галина Ивановна — д.б.н., проф. г.н.с. лаб. выживаемости микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского

Контактная информация:

Тутельян Алексей Викторович — д.м.н., проф. каф. эпидемиологии ИПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова, зав. лаб. инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; 111123 Москва, Новогиреевская 3А; тел.: +7(495)305-5755; e-mail: bio-tav@yandex.ru

Таким образом, выявление и изучение клеточных и молекулярных механизмов формирования покоящихся форм и КП и связанной с ними АТ УПМ имеет фундаментальное значение для понимания молекулярных основ развития ИСМП. При этом целесообразно комплексное исследование функциональной роли молекул межклеточной коммуникации, антибиотиков, медиаторов врожденного и адаптивного иммунитета (про- и антивоспалительные цитокины, антибактериальные пептиды, нейромедиаторы) в формировании АТ бактерий, на основе которого могут быть предложены направления поиска фармакологически активных соединений, минимизирующих выживание микробной популяции при воздействии лекарственных (антибиотических) препаратов.

Фенотипическое и генотипическое разнообразие бактерий-«персистеров». В настоящее время различают два типа «персистеров»: образующиеся в растущей культуре (в фазе экспоненциального — замедленного роста) «персистеры» II типа (КП II), численностью около 0,01% и образующиеся в стационарной культуре «персистеры» I типа (КП I), численностью 1% и более [21, 44].

Другим фенотипом толерантности обладают так называемые индифферентные клетки, физиологическое состояние которых свойственно клеткам культур стационарной фазы [45]. Выход из клеточного цикла обусловливает их временную способность выживать в присутствии антибиотиков. В отличие от КП они чувствительны к антибиотикам хинолонового ряда (в том числе ципрофлоксацину) [46]. Так как стационарная фаза ассоциируется и с индифферентными клетками и КП I, важно различать эти формы толерантности. Еще одной формой временной толерантности бактерий к антибиотикам является метаболическая адаптивная устойчивость, связанная в том числе с изменением проницаемости клеточных оболочек [47]. Кроме того, к формам АТ относят клетки SCV-фенотипа, образующие очень мелкие колонии (диаметром ⩽1 мм), крайне медленно растущие и вследствие этого устойчивые к антибиотикам [46]. Из всех форм АТ наибольшее внимание в настоящее время уделяется КП, поскольку они выживают в присутствии любых АМП, образуются как фенотип выживания и в популяциях клонов, резистентных к антибиотикам, и как считается ответственны за рецидивы хронических инфекций. Следует подчеркнуть, что КП образуются в развивающейся культуре всегда, вне зависимости от наличия антибиотиков, которые являются лишь селектирующим фактором, выделяющим КП из общей массы чувствительных к антибиотикам и потому лизирующихся клеток.

Имеется информация о положительном влиянии на образование толерантных клеток (переход обычного фенотипа в толерантный) при неблагоприятных условиях роста культур: недостаточности азота, обусловливающего голодание клеток [48], гипоксии или низких pH [49].

Относительно связи общего стрессового ответа популяции с развитием разных форм АТ-клеток информации практически нет. При этом остается неопределенной дальнейшая судьба КП в ситуации продолжающихся неростовых условий (в среде с антибиотиком).

Исследование транскриптома изолированной популяции КП показало негативную регуляцию экспрессии генов, участвующих в энергетическом обмене и синтезе факторов патогенности бактерий, таких как жгутики. В совокупности эти исследования подтвердили мнение о том, что КП находятся в состоянии метаболического и пролиферативного покоя. Идентифицированы конкретные гены, которые вовлечены в формирование фенотипа КП у *E. coli*. К этим генам относят *Rmf*, *sulA*, ген ингибитора септации, ген ингибитора трансляции стационарной фазы и гены, кодирующие белки системы токсин—антитоксин (СТА) — *relBE*, *dinJ* и *mazEF* [50]. Особое внимание исследователи уделяют генам, кодирующим белки СТА. Показано, что накопление токсина приводит к угнетению метаболизма бактериальной клетки и блокирует ее пролиферацию, т.е. способствует формированию фенотипа, характерного для КП. В обычных условиях экспоненциального роста популяции бактерий молекула токсина блокирована молекулой соответствующего антитоксина, ген которого часто локализован в плазмидах. Предполагают, что нарушение сбалансированного синтеза токсинов и соответствующих антитоксинов может приводить к избыточной активности токсинов с развитием метаболического и пролиферативного покоя бактериальной клетки [15]. Дисбаланс в продукции компонентов СТА может быть обусловлен аллельными вариантами входящих в эти системы генов. Впервые это продемонстрировано на примере генов токсина и антитоксина, входящих в локус *HypAB*. Определенный генетический вариант белка — антитоксина HypB, обеспечивал повышенную активность белка — токсина HypA. Штаммы *E. coli*, несущие данный аллельный вариант, были способны формировать в 100—1000 раз более многочисленную популяцию КП при действии АМП. В случае генов *RelB* и *MazF* наблюдали гиперэкспрессию токсинов, ассоциированную с устойчивыми мутациями в этих генных локусах, что в конечном итоге фенотипически проявлялось в увеличении популяции персистирующих клеток на несколько порядков по сравнению с изогенными штаммами, имеющих «дикий» генотип [51]. Полученные результаты имеют значение для молекулярно-генетической диагностики повышенной резистентности к антибактериальным препаратам (АБП) у бактерий — возбудителей ИСМП.

Контроль образования КП. Анализ литературы позволяет предположить, что в контроле образования фенотипов персистенции могут быть задействованы следующие участники регуляторного контроля развития микробных популяций: 1) факторы А — бутиролактоны, контролирующие программы развития стрептомицетов; ацилированные лактоны гомосерина (системы quorum sensing) — контролирующие биопленочный фенотип у бактерий; 2) белки семейства Rpf, синтезируемые в ранней фазе экспоненциального роста популяции и реактивирующие некультивируемые клетки; протекторы и адаптогены антиоксидантной защиты; циклические липопептиды — регуляторы адгезии клеток; алкилоксибензолы (АОБ) — полимодальные регуляторы [43, 52]. Эти участники в зависимости от их структуры (положения гидроксилов, длины алкильного радикала) и концентрации контролирующие плотность популяции, экспрессию стрессовых регулонов SOS-ответа и rpoS стационарной фазы, фазовые вариации пилей I типа у E. *coli* посредством способности АОБ могут модифицировать конформацию белков и, следовательно, влиять на их функциональную активность. Используя возможности бактериальных регуляторов, можно влиять на антибактериальный ответ на «лекарственную атаку»: контроль общего rpoS-регулона стационарной фазы через регуляцию генов SOS-ответа и модификацию регуляторных белков, можно регулировать фазовые вариации вирулентности (например, вариации пилей I типа у *E. coli*), направления диссоциативных переходов в гетерогенной популяции.

Стратегии борьбы с КП. Таким образом, для борьбы с АТ бактерий представляются перспективными следующие стратегии: 1) минимизация образования КП за счет регуляции окислительного и общего стресса; 2) принудительная реверсия КП к росту с последующей антимикробной атакой (тиндализация); 3) напротив, предотвращение прорастания КП для предупреждения рецидивов хронических инфекций; 4) перевод КП в состояние микромумий длинноцепочечными АОБ для стерилизации и борьбы с ИСМП; 5) регуляция фазовых переходов для предупреждения или минимизации развития вирулентных клонов; 6) популяционная регуляция минимизации образования покоящихся форм, так как похоже, что именно они ответственны за выживание (персистенцию) условных патогенов, выделение устойчивых к антибиотикам клонов.

При этом, учитывая недавно опубликованные данные о способности некоторых бактериальных метаболитов с функцией аларминов как индуцировать КП, так и модулировать активность клеток иммунной системы [53—57], представляется особенно важным интенсифицировать изучение тех взаимодействий макро- и микроорганизмов, которые приводят к генерации и сохранению КП. Ведь накопление КП в компартментах тканей организма после разрешения или временного утихания воспалительных реакций может быть основой рецидивов инфекции при реверсии КП в бактерии с высоким пролиферативным потенциалом. Классический третий компонент эпидемического процесса — восприимчивый организм теоретически может иметь существенное значение и в эпидемиологии КП.

Если это так, то определение механизмов взаимодействия накапливающихся КП с компонентами, прежде всего врожденного иммунитета, представляет интерес как с точки зрения выявления молекулярных мишеней восприимчивого организма, участвующих в предотвращении накопления КП, так и для поиска биомаркеров, ассоциирующихся с генерацией и накоплением КП в организме. Результаты последних исследований обусловливают необходимость крупных изучений на уровне транскриптома, протеома, метаболома, эпигенома, секвенирования ДНК персистирующих форм. Результатом таких комплексных микробиологических, иммунологических, генетических и постгеномных исследований явилось бы создание системы мониторинга как штаммов с повышенной способностью к образованию КП, так и тех компонентов иммунной системы, которые особенно важны для борьбы с КП. Поэтому наравне с продолжением фундаментальных исследований в области микробиологии персистирующих форм микроорганизмов для решения поставленных вопросов представляется необходимым инициировать исследования, направленные на решения следующих вопросов: как факторы иммунной системы влияют на генерацию КП? Какие параметры иммунной системы могут быть задействованы в иммунном ответе организма на ПК? Существуют ли особые механизмы «иммунного ускользания», способствующие сохранению бактериальных форм, подобных КП, в организме? Наконец, организация широких эпидемиологических исследований по проблеме персистирующих форм патогенных возбудителей и УПМ могла бы связать воедино фундаментальные морфофункциональные характеристики КП, факторы иммунной защиты и механизмы, определяющие эпидемиологическое значение образования, накопления и реверсии КП. Такие исследования могли бы быть проведены на разных контингентах, включая больных с нарушенным в результате трансплантации, онкологического заболевания, медикаментозной терапии иммунитетом; больных, перенесших тяжелые операции, с длительным инфекционным процессом, инфекционными осложнениями критических состояний; возможно, после длительного и частого приема антибиотиков. Результаты таких исследований могут внести существенный вклад в понимание значения КП в эпидемических процессах и разработку методов борьбы на всех этапах их развития, в первую очередь там, где опасность КП наиболее очевидна, а именно при ИСМП.

Как показали многочисленные исследования, популяция КП имеется у большинства видов и штаммов УПМ. Это позволяет по-новому взглянуть на существующие принципы АБТ. Очевидно, что принятый подход, согласно которому необходимо обеспечивать максимальные терапевтические концентрации антибиотика в организме больного может быть неэффективен в отношении штаммов, способных формировать повышенное количество КП в ответ на стресс, индуцированный применяемым антибиотиком. Гибель большинства клеток патогена и нормализация клинических показателей лишь маскируют неизбежное рецидивирование заболевания из выжившей фракции персистирующих клеток. Более того, согласно недавним исследованиям в популяции персистирующих клеток сохраняются клетки, несущие генетические детерминанты АР и сохраняются условия для их горизонтальной передачи мобильными генетическими элементами, что повышает вероятность размножения АР-клонов возбудителя [58]. Поэтому очевидно, что более эффективным может быть подход, основанный на сочетании терапии АБП и препаратами, ингибирующими механизмы популяционной адаптации бактерий — формирование бактерий-«персистеров». Следует отметить, что подобный подход частично реализован в исследованиях группы, возглавляемой K. Lewis [15, 19]. Показано, что препарат ADEP-4, блокирующий протеазу ClpA (компонент ТА системы ClpAB), способен резко снижать популяцию КП *E. coli*, что позволило в сочетании с рифампицином стерилизовать культуру данных клеток как в планктонной форме, так и в составе биопленки [59]. Более того, данная комбинация оказалась значительно эффективнее в защите экспериментальных животных от гибели, при экспериментальном заражении последних патогенными штаммами *E. coli* по сравнению с монотерапией рифампицином.

Другой подход сводится к оптимизации схемы назначения АБП [60]. Суть подхода базируется на предположении, что персистирующая популяция бактерий, выжившая после курса АБТ, неминуемо вступит в пролиферативный цикл, являясь чувствительной к АБТ. Поэтому повторное назначение антибиотиков в определенные сроки после первоначального курса АБТ может эффективно предотвратить рецидив инфекционного процесса. Данный подход находит подтверждение при анализе опыта применения антибиотиков с момента начала их широкого применения. Так, в литературе имеется множество эмпирических данных, свидетельствующих о высокой эффективности интермитирующей антибиотикотерапии многих хронических инфекционных заболеваний. Однако этих данных недостаточно для формирования строгих клинических показаний к повторному курсу антибиотикотерапии. В то же время нерационально и абсолютизировать свойства АБП полностью уничтожать популяцию патогенных микроорганизмов. Очевидно лишь, что игнорировать значения КП в адаптации бактериального сообщества к неблагоприятным условиям существования, являющегося ключевым фактором перехода инфекции в хроническую форму, уже невозможно.

Все перечисленное иллюстрирует важность разработки методов клинической идентификации персистирующей фракции бактериальных патогенов, определения генетических маркеров риска формирования данных клеток у выделяемых штаммов возбудителей ИСМП, и, наконец, методов, верифицирующих переход ПК от покоя к фазе активной пролиферации, до появления клинических признаков рецидива инфекции. Следует отметить, что данные исследования находятся на самой начальной стадии во всем мире.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL Jr. Estimating healthcare-associated infections and deaths in U.S. hospitals 2002. *Public Health Rep.* 2007;122:160-166.
2. Матвеева А.И. Эпидемиологические особенности гнойно-воспалительных заболеваний у больных раком легкого. *Казанский медицинский журнал*. 2005;6:477-479.
3. Румянцев А.Г., Масччан А.А., Самочатова Е.В. *Сопроводительная терапия и контроль инфекций при гематологических и онкологических заболеваниях*. М.: Медпрактика-М; 2009.
4. Medscape/CDC Expert Commentaries, 2013.
5. Roberts RR, Hota B, Ahmad I. Hospital and societal costs of antimicrobial-resistant infections in a Chicago teaching hospital: implications for antibiotic stewardship. *Clin Infect Dis.* 2009;49(8): 1175-1184.
6. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 2001;358(9276):135-187.
7. Lebeaux D, Ghigo JM, Lucet JC. Implanted medical device-related infections: pathophysiology and prevention. *Rev Prat.* 2014;64(5):620-625.
8. Vandecandelaere I, Coenye T. Microbial composition and antibiotic resistance of biofilms recovered from endotracheal tubes of mechanically ventilated patients. *Adv Exp Med Biol*. 2015;830: 137-155.

9. Карпун Н.А., Мороз В.В., Климова Г.М., Акимкин В.Г., Журавлев А.Г., Колесник А.В. Профилактика нозокомиальных инфекций дыхательных путей. *Общая реаниматология*. 2007;3(3):100-104.
10. Голубев А.М., Мороз В.В., Сундуков Д.В. Патогенез острого респираторного дистресс-синдрома. *Общая реаниматология*. 2012;8(4):13-21.
11. *Нозокомиальная пневмония у взрослых. Национальные рекомендации*. Под ред. Чучалина А.Г. М.; 2009.
12. Blot S, Koulenti D, Dimopoulos G, Martin C, Komnos A, Krueger WA, Spina G, Armaganidis A, Rello J; EU-VAP Study Investigators. /Prevalence, risk factors, and mortality for ventilator-associated pneumonia in middle-aged, old, and very old critically ill patients. *Crit Care Med*. 2014;42(3):601-609.
13. Mihai MM, Holban AM, Giurcăneanu C, Popa LG, Buzea M, Filipov M, Lazăr V, Chifiriuc MC, Popa MI. Identification and phenotypic characterization of the most frequent bacterial etiologies in chronic skin ulcers. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(4):1401-1408.
14. Percival SL, McCarty SM, Lipsky B. Biofilms and Wounds: An Overview of the Evidence. *Advances in Wound Care*. 2015;373-381.
15. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5:48-56.
16. Gefen O, Balaban N. The importance of being persistent: heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS Microbiol Rev*. 2009;33:704-717.
17. Balaban NQ, Gerdes K, Lewis K, McKinney JD. A problem of persistence: still more questions than answers? *Nature Rev Microbiol*. 2013;11:587-591.
18. Hobby GL, Meyer K, Chaffee E. Observation on the mechanism of action of penicillin. *Proc Soc Exp Biol NY*. 1942;50:281-285.
19. Lewis K. Persister cells. *Ann Rev Microbiol*. 2010;64:357-372.
20. Bigger JW. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet*. 1944;244:497-500.
21. Balaban NQ, Merrin J, Chait R, Kowalik L, Leibler S. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science*. 2004;305:1622-1625.
22. Guilfoile PG. Antibiotic-resistant bacteria. Chelsea House. NY. 2007; 128.
23. Antonopoulos DA, Huse SM, Morrison HG, Schmidt TM, Sogin ML, Young VB. Reproducible community dynamics of the gastrointestinal microbiota following antibiotic perturbation. *Inf Immun*. 2009;77:2367-2375.
24. Ying Zhang. Persisters, persistent infections and the Yin-Yang model Emerging. *Microbes & Infections*. 2014;3:e3.
    doi:10.1038/emi.2014.3.
25. Wayne LG, Lin KY. Glyoxylate metabolism and adaptation of Mycobacterium tuberculosis to survival under anaerobic conditions. *Inf Immun*. 1982;37:1042-1049.
26. Gengenbacher M, Kaufmann SH. Mycobacterium tuberculosis: success through dormancy. *FEMS Microbiol Rev*. 2012;36(3): 514-532.
27. Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. *Handb Exp Pharmacol*. 2012;211:121-133.
28. Fauvart M, De Groote VN, Michiels J.Role of persister cells in chronic infections: clinical relevance and perspectives on anti-persister therapies. *J Med Microbiol*. 2011;60(Pt 6):699-709.
29. Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. *PLoS Med*. 2007;4:e329.
30. Helaine S, Thompson JA, Watson KG, Liu M, Boyle C, Holden DW. Dynamics of intracellular bacterial replication at the single cell level. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:3746-3751.
31. Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:29-49.
32. Kent ME, Romanelli F. Reexamining syphilis: an update on epidemiology, clinical manifestations, and management. *Ann Pharmacother*. 2008;42:226-236.
33. Monack DM, Mueller A, Falkow S. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2:747-765.
34. Caygill CP, Hill MJ, Braddick M, Sharp JC. Cancer mortality in chronic typhoid and paratyphoid carriers. *Lancet*. 1994;343: 83-84.
35. Chronic and acute infection of the gall bladder by Salmonella Typhi: understanding the carrier state. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9: 9-14.
36. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. Helicobacter pylori-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991;338:1175-1176.
37. LaFleur MD, Kumamoto CA, Lewis K. Candida albicans biofilms produce antifungal-tolerant persister cells. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(11):3839-3846.
38. Mulcahy LR, Burns JL, Lory S, Lewis K. Emergence of Pseudomonas aeruginosa strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis. *J Bacteriol*. 2010;192: 6191-6199.
39. Singh PK, Schaefer AL, Parsek MR, Moninger TO, Welsh MJ, Greenberg EP. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. *Nature*. 2000;407(6805):762-764.
40. Whiteley M, Bangera MG, Bumgarner RE, Parsek MR, Teitzel GM, Lory S, Greenberg EP. Gene expression in Pseudomonas aeruginosa biofilms. *Nature*. 2001;413(6858):860-864.
41. Foley I, Marsh P, Wellington EM, Smith AW, Brown MR. General stress response master regulator rpoS is expressed in human infection: a possible role in chronicity. *J Antimicrob Chemother*. 1999;43(1):164-165.
42. Roszak DB, Colwell RR. Metabolic activity of bacterial cells enumerated by direct viable count. *Appl Environ Microbiol*. 1987;53:2889-2893.
43. Эль-Регистан Г.И., Мулюкин А.Л., Николаев Ю.А., Сузина Н.Е., Гальченко В.Ф., Дуда В.И. Адаптогенные функции внеклеточных ауторегуляторов микроорганизмов. *Микробиология*. 2006;75(4):446-456.
44. Shah D, Zhang Z, Khodursky AB, Kaldalu N, Kurg K, Lewis K. Persisters: a distinct physiological state of E. coli. *BMC Microbiol*. 2006;6:53-61.
45. Levin BR, Rozen DE. Non-inherited antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2006;4:556-562.
46. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence*. 2013;4: 273-283.
47. Fernandez L, Hancock RE. Adaptive and mutation resistance: Role of porin and efflux pumps in drug resistence. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25:661-681.
48. Nguyen D, Joshi-Datar A, Lepine F, Bauerle E, Olakanmi O, Beer K, McKay G, Siehnel R, Schafhauser J, Wang Y, Britigan BE, Singh PK. Active starvation responses mediate antibiotic tolerance in biofilms and nutrient-limited bacteria. *Science*. 2011;334:982-986.
49. Wayne LG, Lin KY. Glyoxylate metabolism and adaptation of Mycobacterium tuberculosis to survival under anaerobic conditions. *Infect Immun*. 1982;37:1042-1049.
50. Maisonneuve E, Gerdes K. Molecular mechanisms underlying bacterial persisters. *Cell*. 2014;157:539-548.

51. Kolodkin-Gal I, Sat B, Keshet A, Engelberg-Kulka H. The communication factor EDF and the toxin-antitoxin module mazEF determine the mode of action of antibiotics. *PLoS Biol*. 2008;6:e319.

52. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.Н., Эль-Регистан Г.И. *Механизмы выживания бактерий*. М.: Медицина; 2005.

53. Moker N, Dean CR, Tao J. Pseudomonas aeruginosa Increases Formation of Multidrug-Tolerant Persister Cells in Response to Quorum-Sensing Signaling Molecules. *J Biotechnol*. 2010;192(7): 1946-1955.

54. Lakshmana GK, John J, Marie MA, Sangeetha G, Bindurani SR. Isolation and characterization of quorum-sensing signaling molecules in Pseudomonas aeruginosa isolates recovered from nosocomial infections. *APMIS*. 2013;121(9):886-889.

55. Glucksam-Galnoy Y, Sananes R, Silberstein N, Krief P, Kravchenko VV, Meijler MM, Zor T. The bacterial quorum-sensing signal molecule N-3-oxo-dodecanoyl-L-homoserine lactone reciprocally modulates pro- and anti-inflammatory cytokines in activated macrophages. *J Immunol*. 2013;191(1): 337-344.
doi:10.4049/jimmunol.1300368.

56. Garner AL, Yu J, Struss AK, Kaufmann GF, Kravchenko VV, Janda KD. Immunomodulation and the quorum sensing molecule 3-oxo-C12-homoserine lactone: the importance of chemical scaffolding for probe development. *Chem Commun (Camb)*. 2013;49(15):1515-1517.

57. Monack DM, Hultgren SJ. The complex interactions of bacterial pathogens and host defenses. *Curr Opin Microbiol*. 2013;16(1):1-3.
doi:10.1016/j.mib.2013.03.001.

58. Эль-Регистан Г.И., Николаев Ю.А., Мулюкин А.Л., Н.Г. Лойко, Е.В. Демкина, В.М. Писарев, А.М. Гапонов, А.В. Тутельян Явление персистенции — формы и механизмы выживаемости популяций. *Медицинский алфавит*. 2014;10(2): 49-54.

59. Conlon B, Nakayasu E, Fleck L, LaFleur M, Isabella V, Coleman K. Activated ClpP kills persisters and eradicates a chronic biofilm infection. *Nature*. 2013;503(7476):365-370.

60. Ling L, Schneider T, Peoples A, Spoering A, Engels I, Conlon B. A novel antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature*. 2015;517(7535):455-459.

Поступила 25.06.2015