



β -лактамазы

маленькие враги большой терапии

БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ: МАЛЕНЬКИЕ ВРАГИ БОЛЬШОЙ ТЕРАПИИ

Автор: Артём Ильинков

Редакция: Алексей недосугов, Cornu Ammonis

Оформление: Матвей Карпов

Верстка: Cornu Ammonis

Онлайн-версия

■ ВВЕДЕНИЕ

Открытие пенициллина Александром Флемингом в 1928 году ознаменовало новую эру медицины, сделав излечимыми многие бактериальные инфекции и позволив безопасно проводить сложные операции.¹³ С момента внедрения пенициллина в клиническую практику в 1940-х годах β-лактамные антибиотики стали и остаются одними из важнейших средств лечения бактериальных инфекций.^{10,12} Однако уже в первые годы их применения появились резистентные штаммы: так, к концу 1940-х у *Staphylococcus aureus* повсеместно выявлялась устойчивость к пенициллину¹⁴ вследствие продукции фермента, разрушающего этот антибиотик (пенициллиназы). В течение последующих десятилетий фармация разработала новые β-лактамы (цефалоспорины, карбапенемы и др.) для преодоления резистентности, но и бактерии не стояли на месте.

Сегодня β-лактамные антибиотики являются самой широкой применяемой группой противомикробных препаратов,⁵ поэтому борьба с резистентностью к ним имеет критически важное значение. Основную роль в развитии устойчивости играют ферменты — β-лактамазы, которые инактивируют антибиотик ещё до того, как он достигнет своей мишени. За десятилетия использования пенициллина и его производных микроорганизмы выработали впечатляющий арсенал защитных ферментов.⁷

Первые β-лактамазы были выявлены уже в середине XX века — буквально через несколько лет после внедрения пенициллина. Однако сами эти ферменты существовали задолго до появления антибиотиков, будучи эволюционно связаны с пенициллин-связывающими белками (ПСБ) бактерий.³ С течением времени они эволюционировали от узкоспектрных пенициллиназ, активных только против бензилпенициллина, до современных карбапенемаз, способных разрушать почти весь спектр β-лактамов.

Каждое новое поколение антибиотиков вызывало ответную реакцию у бактерий: мутации, горизонтальный перенос генов и появление всё более устойчивых ферментов. Так, в 1960-х был впервые описан плазмидный фермент TEM-1 (названный в честь пациента Темоньера), который стремительно распространился среди *Enterobacteriaceae*, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria gonorrhoeae*. Позднее появились SHV-1 у *Klebsiella pneumoniae* и семейство CTX-M, ставшее ведущей причиной резистентности *E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella* spp. и *Salmonella enterica*. Точечные мутации в генах TEM и SHV привели к возникновению β-лактамаз расширенного спектра (БРСЛ, ESBL — Extended-spectrum β-lactamases), способных инактивировать цефалоспорины III поколения.

Параллельно появились новые классы ферментов: цефалоспориназы AmpC и металло-β-лактамазы (MBL), зависимые от ионов цинка. Сегодня β-лактамазы — наиболее

распространённый механизм резистентности у грамотрицательных бактерий.¹³ Описано более 8000 разновидностей этих ферментов.^{9,15}

Таким образом, эволюция β-лактамаз — это непрекращающаяся гонка вооружений между микробами и фармакологами: появление нового β-лактама почти неизбежно сопровождается возникновением фермента, способного его разрушить. Этот процесс — основа нарастающей антибиотикорезистентности. Однако именно понимание структуры и функций β-лактамаз позволяет создавать таргетные ингибиторы и разрабатывать молекулы, способные обходить или подавлять бактериальные механизмы защиты.⁶

За десятилетия клинического применения β-лактамов бактерии выработали множество разнообразных β-лактамаз. Эти ферменты существовали у бактерий задолго до эры современных антибиотиков, будучи эволюционно связанными с пенициллин-связывающими белками (ПСБ) бактерий.³ В настоящее время описано более 8000 β-лактамаз, способных разрушать β-лактамное кольцо.^{9,15} Такая быстрая эволюция обусловлена как спонтанными мутациями, так и распространением генов β-лактамаз между бактериями посредством плазмид и других мобильных элементов ДНК. Для медицины это означает постоянное появление «супербактерий», создающих серьезную угрозу неэффективности терапии.⁶

■ КЛАССИФИКАЦИИ β-ЛАКТАМАЗ

β-Лактамазы представляют собой чрезвычайно разнообразное семейство ферментов, поэтому для их систематизации используются две основные классификационные системы. Молекулярная классификация Эмблера делит β-лактамазы на четыре класса — А, В, С и D — по сходству аминокислотной последовательности и структурным особенностям активного центра.¹ Ферменты классов А, С и D — это сериновые β-лактамазы, в активном центре которых ключевую роль играет остаток серина, тогда как класс В — это металло-β-лактамазы (MBL), использующие для гидролиза ион цинка.¹

Другой широко используемый подход — функциональная классификация Буша-Жакоби-Медейроса, основанная на спектре гидролизуемых антибиотиков и чувствительности к ингибиторам.^{1,3} В этой функциональной схеме β-лактамазы разделяются на несколько групп:

- Группа 1 — цефалоспориназы класса С (AmpC, Amber-class C cephalosporinase). Характерна устойчивость к действию клавулановой кислоты и преимущественный гидролиз цефалоспоринов.
- Группа 2 — сериновые β-лактамазы классов А и D. Наиболее обширная группа, включающая несколько подклассов:

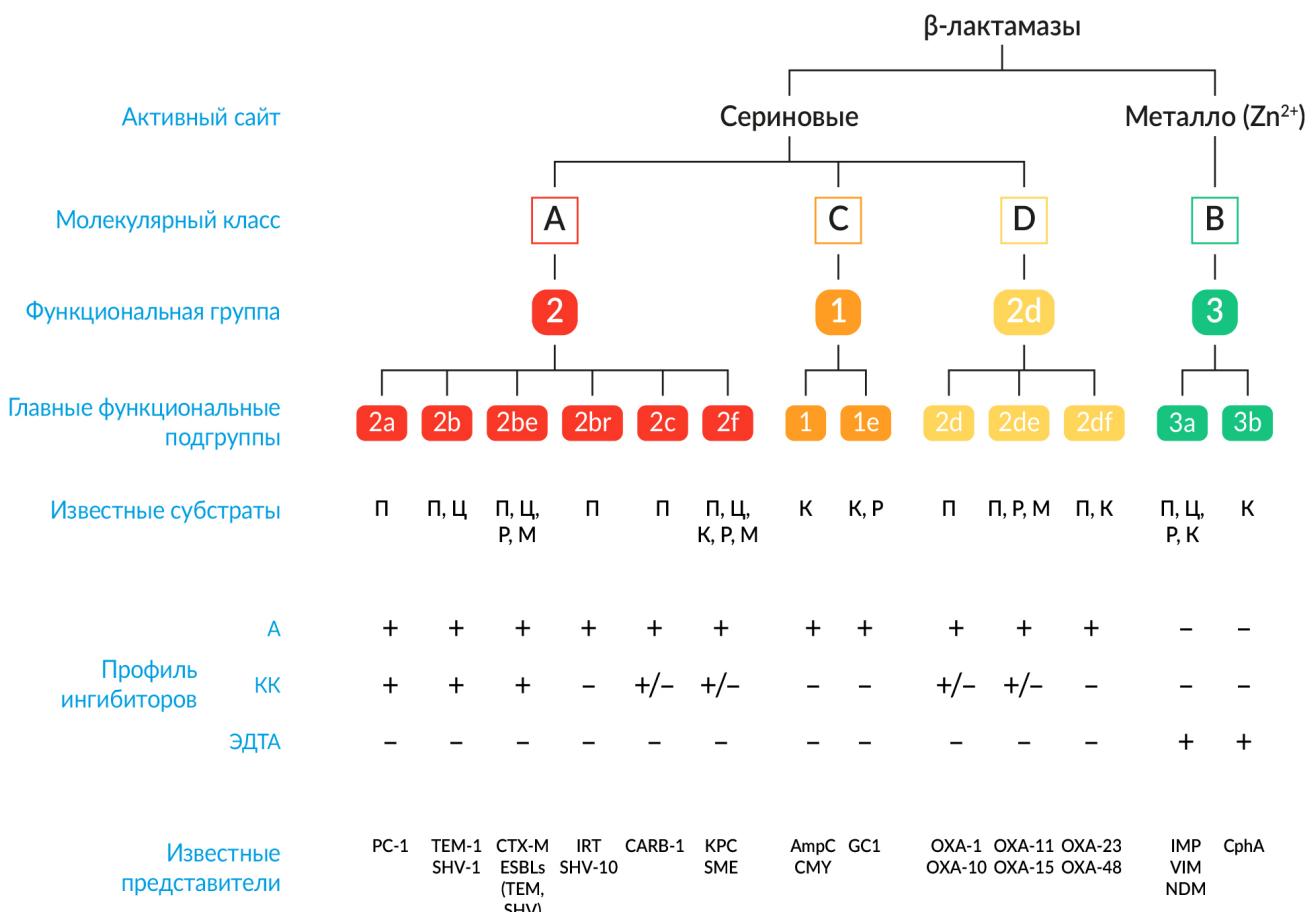


Рисунок 1 | Молекулярная и функциональная классификации бета-лактамаз.

П – пенициллин, Ц – цефалоспорины, Р – цефалоспорин расширенного спектра, М – монобактам, К – карбипенем, А – авибактам, KK – клавулановая кислота.

- 2a — стафилококковые пенициллины,
- 2b — бета-лактамазы широкого спектра действия (например, TEM-1 – Temoniera-1),
- 2be — бета-лактамазы расширенного спектра,
- 2br — ингибитор-резистентные бета-лактамазы,
- 2f — карбапенемазы классов А и D (например, KPC – Klebsiella pneumoniae carbapenemase и OXA-48 – Oxacillinase-48). Большинство бета-лактамаз группы 2 чувствительны к ингибиторам, таким как клавулановая кислота, за исключением 2br и части 2f.
- Группа 3 — металло-бета-лактамазы класса В. К ним относятся ферменты, такие как IMP (Imipenemase), VIM (Verona Integron-encoded Metallo-β-lactamase) и NDM (New Delhi Metallo-β-lactamase). Эти бета-лактамазы инактивируют карбапенемы, устойчивы к действию ингибиторов и представляют собой один из самых грозных механизмов резистентности.¹

Обе системы классификации дополняют друг друга: в клинической практике чаще оперируют понятиями классов A–D, но функциональные группы позволяют предсказать, какие антибиотики фермент способен гидролизовать и какие ингибиторы могут ему противодействовать.² Номенклатура отдельных бета-лактамаз исторически складывалась хаотично (ферменты получали названия по месту об-

наружения, свойствам или даже имени пациента), но сейчас принято присваивать новым ферментам порядковые номера в рамках семейств (например, TEM-1, TEM-2 и т.д.).² Ниже будет приведено описание основных классов A, B, C, D бета-лактамаз, наиболее значимых в клинике.

Существует ещё одна практическая классификация бета-лактамаз, которая в клинической практике используется значительно чаще, чем формальные вышеописанные классификации. Она основана на функциональном делении бета-лактамаз в зависимости от того, какие антибиотики они способны гидролизовать:

- Узкоспектровые бета-лактамазы (Narrow-spectrum β-lactamases). Гидролизуют только "старые" пенициллины (например, ампициллин, бензилпенициллин), а также некоторые цефалоспорины 1 поколения, такие как цефалексин и цефазолин. Эти ферменты чувствительны к ингибиторам бета-лактамаз (например, клавулановой кислоте).
- Бета-лактамазы расширенного спектра. Помимо пенициллинов, они инактивируют цефалоспорины 3–5 поколения (цефтриаксон, цефотаксим, цефтаэдин), а также азtreонам.
- Карбапенемазы. Самая угрожающая группа: эти ферменты способны гидролизовать практически все бета-лактамные антибиотики — от пенициллинов и цефалоспоринов до карбапенемов (имипенем, меропенем, дорипенем и др.).

Класс А

Класс А (по Эмблеру) – самая обширная группа сериновых β -лактамаз. Эти ферменты обычно обладают широким спектром действия, гидролизуя пенициллины и многие цефалоспорины. Классическим примером являются плазмидные пенициллиазы *Temoniera-1* (имя пациента из Греции, у которого впервые выделили штамм *E. coli*, производящий TEM-1) и *Sulphydryl Variable-1* (SHV-1), широко распространившиеся среди кишечных бактерий и ставшие причиной резистентности к ампициллину у *E. coli* и *Klebsiella pneumoniae* уже в 1960–70-х годах.² До появления БЛРС именно TEM-1 оставалась основным фактором устойчивости к пенициллинам у *E. coli* и гонококков, а SHV-1 — у *K. pneumoniae*.² Позднее, путем точечных мутаций в генах TEM/SHV возникли БЛРС, способные разрушать цефалоспорины третьего поколения. Первые БЛРС (например, TEM-3, SHV-2) появились в 1980-х, а в 2000-х по всему миру распространились новые семейства БРЛС, главным образом CTX-M, ставшие наиболее распространенными β -лактамазами этого типа.² Ферменты класса А включают также серьезные карбапенемазы — например, KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), впервые выявленную в 2001 г. и ныне эндемичную во многих регионах. KPC относится к так называемым сериновым карбапенемазам и способна гидролизовать карбапенемы, что обуславливает крайне высокий уровень резистентности возбудителей.¹³ В целом, классу А принадлежит множество клинически значимых β -лактамаз: помимо упомянутых TEM, SHV, CTX-M и KPC сюда входят и другие плазмидные β -лактамазы широкого спектра (например, PER, VEB, GES), а также хромосомные пенициллиазы некоторых Грам+ бактерий (фермент PC1 у *S. aureus*, обусловивший неэффективность пенициллина при стафилококковых инфекциях). Большинство β -лактамаз класса А эффективно подавляются классическими ингибиторами (клавулановой кислотой, тазобактамом), за исключением некоторых карбапенемаз (KPC) и мутантных БРЛС, устойчивых к ингибиторам (так называемые IRT — inhibitor-resistant TEM) — для них требуются новые ингибиторы.

Класс В

Класс В – это металло- β -лактамазы (MBL), fundamentally отличные по механизму действия. В активном центре MBL содержат ионы Zn²⁺, которые непосредственно активируют воду для гидролиза β -лактамного кольца. Эти ферменты способны разрушать практически все β -лактамные антибиотики, включая карбапенемы (исключение составляют лишь монобактамы, например азtreонам, который MBL гидролизуют крайне слабо).¹ Металло- β -лактамазы обладают самым широким спектром гидролиза среди всех классов и потому представляют особую угрозу. К настоящему времени описано несколько десятков видов MBL, разделяемых на подгруппы B1, B2, B3. К клинически наиболее значимым относятся подгруппа B1: это приобретенные плазмидные карбапенемазы NDM, VIM, IMP, распространившиеся по всему миру.¹³ Названия многих из них отражают географическое происхождение — например, New Delhi MBL (NDM) впервые выявлена в Индии в 2008 г., Verona integron MBL (VIM) — в Европе, Imipenemase (IMP) — в Японии. MBL подгруппы B3 (например, GIM, SIM) встречаются реже и обычно локальны. Подгруппа B2 (ферменты типа CphA) характерна для *Aeromonas* и гидролизует в основном только карбапе-

немы.¹ Металло- β -лактамазы часто обнаруживаются у полирезистентных госпитальных штаммов, сочетающих сразу несколько механизмов устойчивости. Так, бактерии, производящие MBL, почти всегда одновременно устойчивы к фторхинолонам, аминогликозидам и другим антибиотикам.¹ Важнейшая проблема класса В — отсутствие эффективных ингибиторов в клинической практике: ни клавулановая кислота, ни другие доступные ингибиторы сериновых β -лактамаз не подавляют MBL.¹ Поэтому появление MBL (например, распространение NDM) резко ограничивает выбор антибиотикотерапии. Некоторые MBL являются приобретенными (плазмидными), другие же изначально присутствуют на хромосоме отдельных бактерий (например, L1 у *Stenotrophomonas maltophilia*, CcrA/CfiA у *Bacteroides fragilis*), однако последние обычно слабо экспрессируются и имеют меньшее клиническое значение.¹ Появление мобильных MBL в Enterobacterales и неферментерах с конца 1990-х привело к формированию штаммов с практически панрезистентным фенотипом.

Класс С

Класс С — это AmpC-тип β -лактамаз, иначе называемые цефалоспориназы. Эти сериновые ферменты обычно не переносятся плазмидами, а закодированы в хромосомах многих грамотрицательных бактерий.¹³ В нормальных условиях гены ampC у этих видов мало экспрессируются, поэтому первоначально штаммы чувствительны к β -лактамам. Однако под действием мутаций или индукции некоторыми антибиотиками синтез AmpC резко усиливается, что приводит к высоким уровням резистентности.¹³ Классическими продуcentами AmpC являются возбудители из группы ESC (enterobacter, serratia, citrobacter) — например, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, а также *Pseudomonas aeruginosa*.² У этих бактерий повышенная экспрессия хромосомной AmpC приводит к устойчивости к большинству цефалоспоринов, включая цефтриаксон, цефотаксим и др.² Кроме того, β -лактамазы класса С способны гидролизовать цефамицины (Цефокситин), многие пенициллины и монобактам азtreонам.² В норме их активность недостаточна против карбапенемов, однако при сочетании с нарушением проницаемости мембран (потерей поринов) даже AmpC- β -лактамаза может обеспечивать устойчивость к карбапенемам.² Клиническая значимость AmpC возросла с обнаружением плазмидных вариантов этих ферментов: такие гены, как blaCMY, blaDHA, blaFOX были перенесены с хромосомных AmpC некоторых видов (*C. freundii*, *Morganella morganii*, *Enterobacter*) на плазмиды и распространились среди *E. coli*, *Klebsiella* и других патогенов.^{2,13} Плазмидные AmpC (иногда их называют цефаминазами) обычно гиперэкспрессируются за счет сильных промоторов и высокого числа копий гена, что делает их носителей высокоустойчивыми. Важное практическое отличие: ингибиторы первого поколения (клавуланат, тазобактам, сульбактам) плохо подавляют AmpC, поэтому инфекции, вызванные AmpC-продуцентами, не лечатся комбинированными препаратами типа амоксициллин-клавуланат или пиперациллин-тазобактам. К счастью, новые ингибиторы (например, авибактам, ваборбактам, релебактам, дурлобактам, энметазобактам) эффективно инактивируют большинство β -лактамаз класса С, что расширяет возможности терапии (см. ниже).²

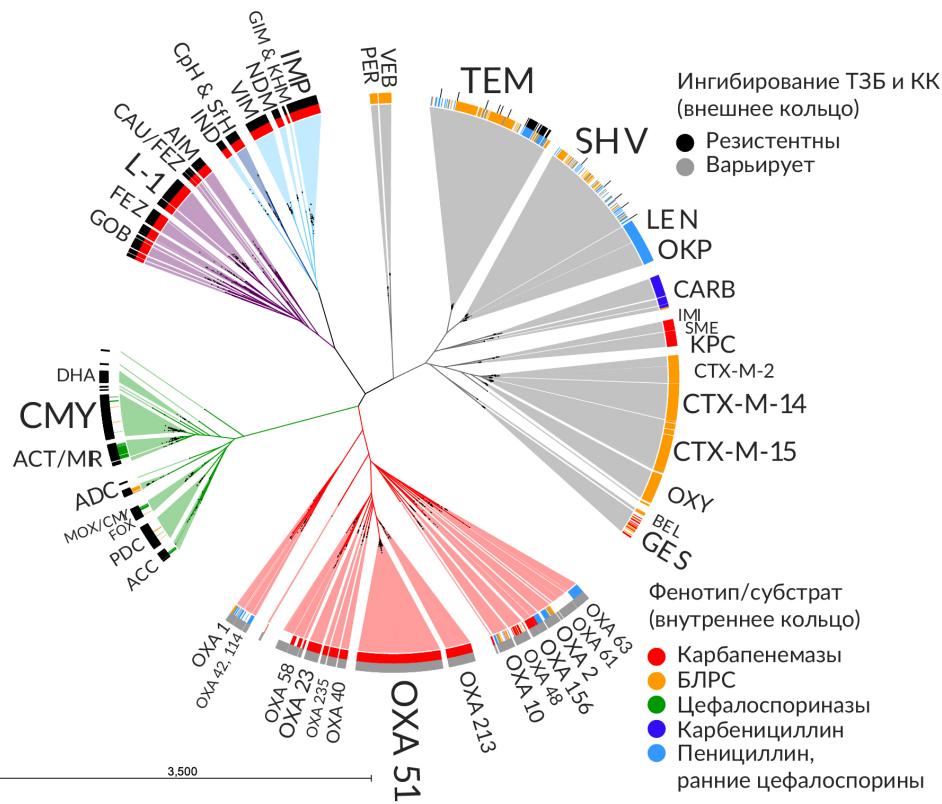


Рисунок 2 | Филогенетическое дерево, включающее 1886 бета-лактамаз.

Классы отмечены в соответствии с классификацией Амблера: А — серый; В1 — светло-голубой; В2 — темно-синий; В3 — пурпурный; С — зеленый; D — красный. Два кольца вокруг филогенетического дерева обозначают известные профили субстратов β-лактамаз и устойчивость к ингибиторам. Точки внутри филогенетического дерева указывают на позиции вариантов внутри дерева. Точки могут перекрываться, что свидетельствует о высокой степени родства.

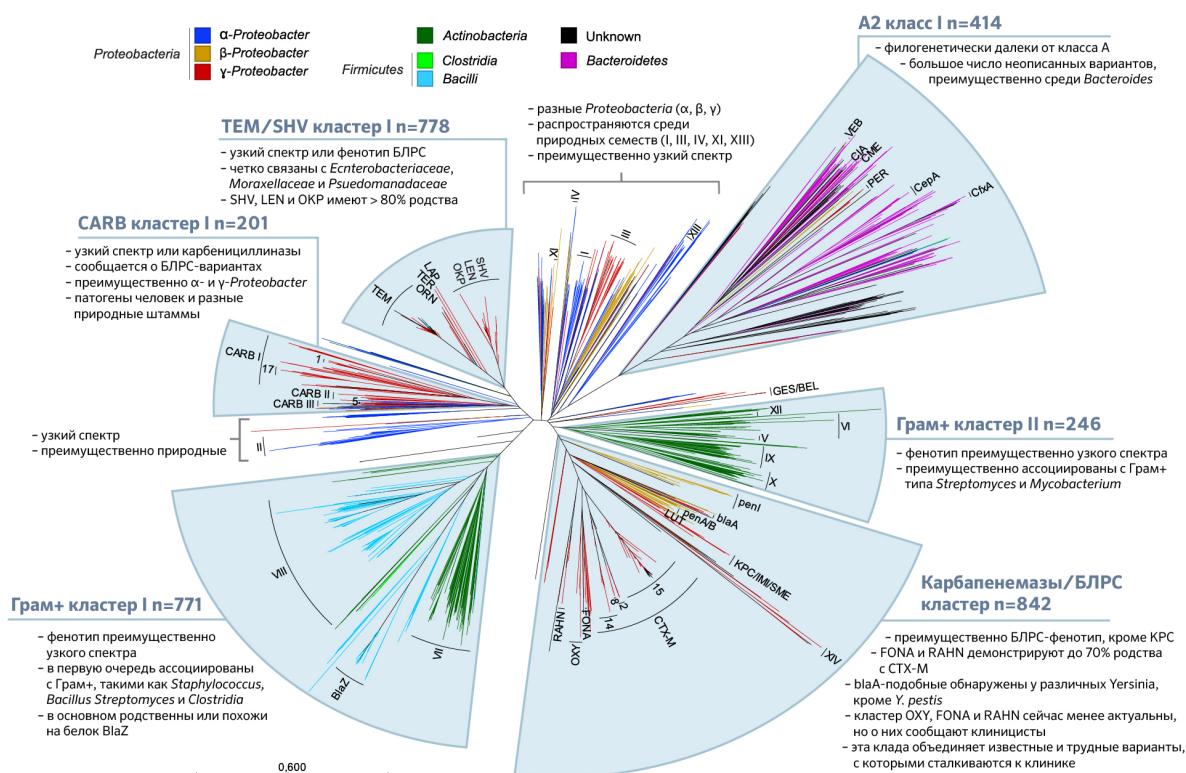
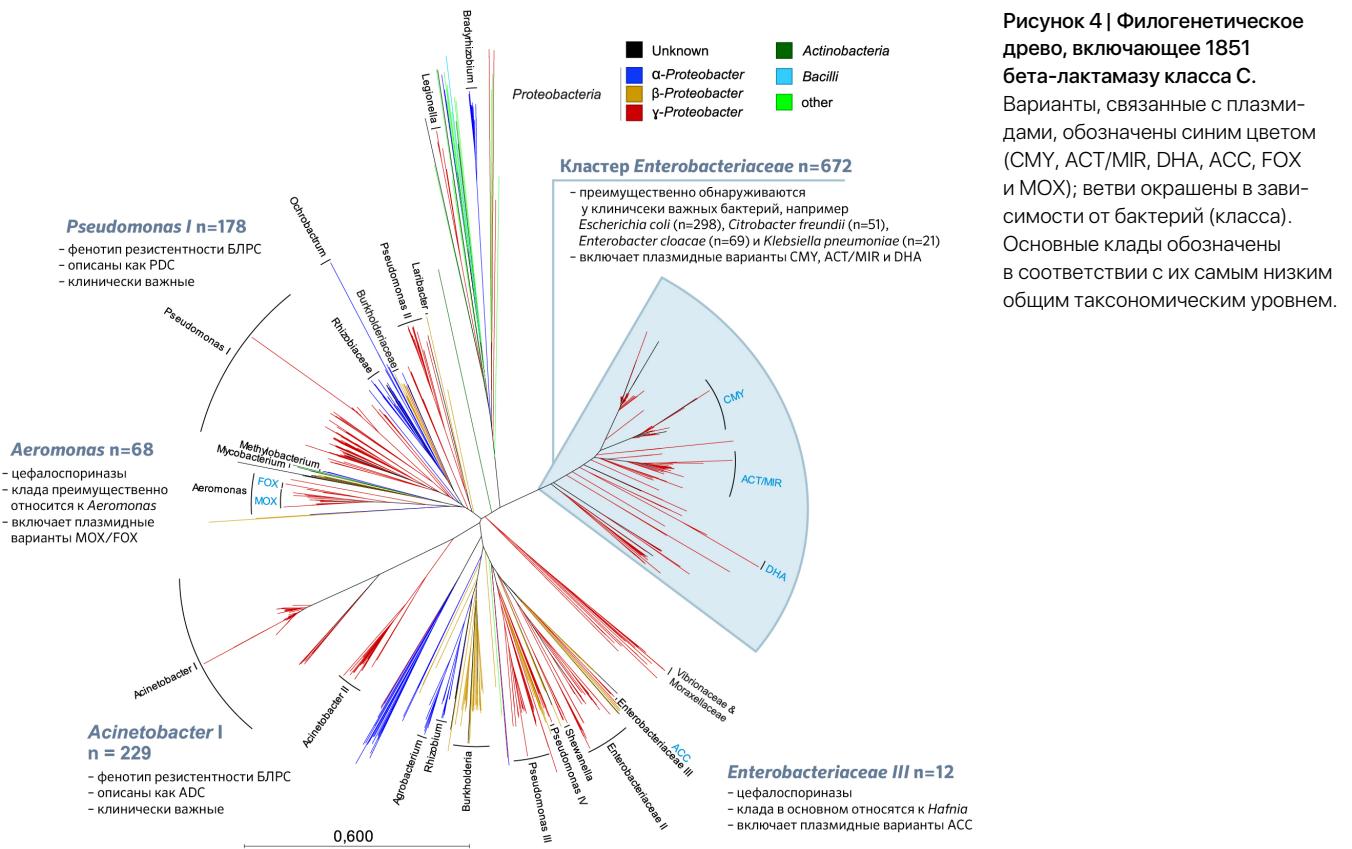


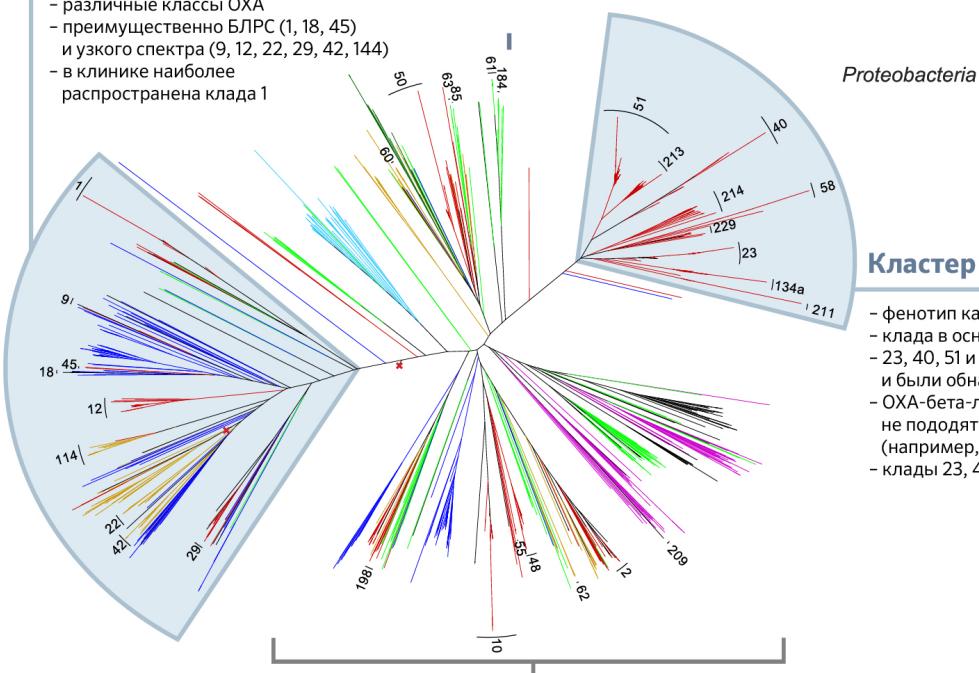
Рисунок 3 | Филогенетическое дерево 3835 вариантов β-лактамаз класса А.

Древо разбито на кластеры для наглядности. Названы только основные клады в соответствии с известной номенклатурой, неклассифицированные отмечены римскими цифрами. Ветви окрашены в зависимости от типа (phylum).



Класс D2 n=344

- различные классы ОХА
- преимущественно БЛРС (1, 18, 45) и узкого спектра (9, 12, 22, 29, 42, 144)
- в клинике наиболее распространена клада 1



- различные природные клады
- клады 2, 10 и 48 распространены в клинике
- фенотип резистентности варьирует между БЛРС (2, 10), карбапенемазами (48, 60, 62) и изким спектром (55, 55, 61, 63, 85, 184, 198, 209)
- возможны скрытые пути карбапенемаз

Kazan, Acinetobacter p-307

- фенотип карбапенемаз
- клада в основном относится к *Acinetobacter*
- 23, 40, 51 и 58 распространяются через плазмиды и были обнаружены у *K. pneumoniae*
- ОХА-бета-лактамазы этого кластера не пододят в качестве видового маркера (например, для *A. baumannii*)
- клады 23, 48 и 58 распространены в клинике

■ *Actinobacteria*
■ *Bacilli*
✖ *blaR* (collapsed)
■ other

Рисунок 5 | Филогенетическое дерево 1843 вариантов β -лактамаз класса D.

Гибискус Филадельфийский дерево 1948 варианты с лаками класса В.
Всего указано 433 bla-B-подобных рецепторных последовательностей, но они свернуты (красный крестик);
ветви окрашены в зависимости от организма (класса). Клады обозначены в соответствии с описанной группой ОХА.

Таблица 1 | Классификация по Амблеру и краткая характеристика бета-лактамаз.

Класс	Тип β-лактамазы (группа)	Основные β-лактамазы	Разрушаемые антибиотики	Бактерии-продуценты	Передача гена (плазмидная/хромосомная)
A	2a (пенициллиназы)	PC1 (стафилококковая β-лактамаза)	Пенициллины (в особенности бензилпенициллин)	<i>Staphylococcus aureus</i> (90% штаммов, вызывает пенициллинерезистентность)	Плазмидная (чаще) либо в интегронае (ген blaZ)
A	2b (широкого спектра)	TEM-1, SHV-1	Ампициллин и др. аминопенициллины; цефалоспорины I поколения	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (TEM-1); <i>K. pneumoniae</i> (SHV-1)	Плазмидная (широко распространена)
A	2be (расширенного спектра, ESBL)	CTX-M-15, TEM-3, SHV-2 и др. ESBL	Цефалоспорины II–IV поколений (цефтриаксон, цефотаксим, цефтазидим и др.), азtreонам	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> (чаще всего); также <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> и др.	Плазмидная (эпидемическое распространение)
A	2br (ингибитор-устойчивые)	Ингибитор-резистентные TEM (IRT): напр. TEM-30, TEM-50; реже SHV-10	Ампициллин и др. пенициллины (спектр как у TEM-1), но невосприимчивы к клавуланату и сульбактаму	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (штаммы с IRT-TEM ферментами)	Плазмидная (варианты гена bla_TEM-1 с мутациями)
A	2c (карбенициллины)	PSE-1, CARB-3	Карбенициллин, тикарциллин (расширенный спектр пенициллинов)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (штаммы, производящие PSE/Carb ферменты); также встречаются у <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> и др. грамотрицательных	Плазмидная (обычно ген в интегронах у госпитальных штаммов)
A	2f (карбапенемазы класса A)	KPC-2/3, NMC-A/IMI-1, SME-1 (а также GES-5 и др.)	Карбапенемы (имипенем, меропенем); также большинство пенициллинов и цефалоспоринов	<i>K. pneumoniae</i> (KPC – глобально распространены); <i>Enterobacter cloacae</i> (NMC-A, IMI-1); встречаются также у <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> и др.	Плазмидная (например, KPC в переносимых плазмidaх); некоторые – хромосомная (<i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> ; гены NMC/IMI, SME)
B	3a (MBL широкого спектра, подкласс B1/B3)	IMP-1, VIM-1, NDM-1 (а также их многочисленные варианты)	Пенициллины, цефалоспорины всех поколений, карбапенемы (монобактамы не гидролизуются)	<i>P. aeruginosa</i> (IMP, VIM); <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> и др. <i>Enterobacterales</i> (NDM, VIM); <i>Acinetobacter baumannii</i> (VIM, NDM)	Плазмидная (чаще всего в интегронах класса 1)
B	3b (MBL узкого спектра, подкласс B2)	CphA (IMIS)	Преимущественно карбапенемы (имипенем) – узкая специализация	<i>Aeromonas hydrophila</i> и др. виды <i>Aeromonas</i> (бактерии, у которых обнаружены ферменты типа CphA)	Хромосомная (врожденная у некоторых видов)
C	1 (цефалоспориназы AmpC)	AmpC (хромосомные аналоги: AmpC <i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp. и др.); плазмидные AmpC: CMY-2, DHA-1, FOX-1 и др.	Цефалоспорины I–III поколений, цефамицины (цефокситин); сниженная активность также против аминопенициллинов	<i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>P. aeruginosa</i> (индуцируемые хромосомные AmpC); <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. (при приобретении плазмидных AmpC типа CMY, DHA)	Хромосомная (у природных продуцентов AmpC) либо плазмидная (перенос генов ampC в другие виды)
D	2d (оксациллины)	Узкий спектр: OXA-1, OXA-10 (пенициллины)	Оксациллин, клоксациллин, ампициллин (основные)	<i>E. coli</i> (OXA-1, плазмидная β-лактамаза); <i>P. aeruginosa</i> (OXA-10 и производные) <i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp. (OXA-48 и родственные, распространяются в Европе); <i>A. baumannii</i> (OXA-23, -24, -58 – главные карбапенемазы этого вида)	Плазмидная (большинство: OXA-1, -48 переносятся плазмидами); у ацинетобактер возможна хромосомная интеграция OXA-гена (OXA-23 может быть на плазмиде или хромосоме)

Примечание: β-лактамазы класса A (группа 2) обычно ингибитируются классическими ингибиторами (клавулановой кислотой, сульбактамом, тазобактамом), за исключением некоторых 2br-мутантов и карбапенемаз.

Наиболее распространены и клинически значимы приобретенные MBL семейств IMP, VIM и NDM, которые выявлены по всему миру у различных грамотрицательных бактерий. Например, bla_NDM-1 впервые обнаружен у *K. pneumoniae* (Индия, 2007) и затем быстро распространился среди энтеробактерий по миру.

Индукция синтеза AmpC у таких бактерий, как *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* и др., приводит к развитию резистентности при применении цефалоспоринов. Плазмидные AmpC (например, CMY-2, DHA-1) получили широкое распространение и могут вызывать устойчивость у *E. coli*, *Klebsiella* и других изначально не имевших AmpC видов.

Несколько оксациллинов (OXA-11, OXA-14 – OXA-20) являются ESBL-модификациями, гидролизующими цефалоспорины расширенного спектра. Карбапенемазы класса D включают семейства OXA-48-like (энтеробактерии) и OXA-23-like (ацинетобактер) – эти ферменты широко распространялись в госпитальной среде по всему миру.¹⁻³

Класс D

Класс D – это семейство так называемых оксациллиназ (OXA-ферментов). Они также относятся к сериновым β -лактамазам, но обладают рядом отличий (например, другой механизм активации серина в активном центре). Название «оксациллиназы» связано с тем, что первые выявленные ферменты этого класса гидролизовали оксациллин и кликсакил — антистафилококковые пенициллины. Класс D включает десятки ферментов, большинство из которых обнаружены у грамотрицательных бактерий. Некоторые OXA- β -лактамазы имеют узкий спектр (разрушают преимущественно пенициллин и оксациллин) — примером служит OXA-1, часто встречающаяся у *E. coli*. Однако наибольшее клиническое значение имеют OXA, способные гидролизовать карбапенемы. К ним относятся прежде всего OXA-48 и родственные ферменты у *Enterobacteriales*, а также многочисленные OXA у *Acinetobacter baumannii* (группы OXA-23, -24/40, -58 и др.).¹³ OXA-48 впервые выявлена в начале 2000-х в Турции, ныне её плазмидные гены широко распространены среди кишечных палочек и клебсиелл в Европе, Северной Африке и других регионах. Этот фермент отличается тем, что гидролизует карбапенемы менее эффективно, чем классические карбапенемазы (KPC, NDM), однако достаточно для клинической резистентности. Кроме того, OXA-48 не разрушает цефалоспорины III-V поколений (что маскирует её присутствие в стандартных тестах чувствительности) — из-за этих особенностей обнаружение OXA-48 представляет диагностическую сложность.⁵ В то же время другие представители класса D у *A. baumannii* — OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 — являются одной из главных причин высокой устойчивости ацинетобактеров к карбапенемам.¹³ Гены OXA-карбапенемаз обычно находятся в составе мобильных элементов генома (например,

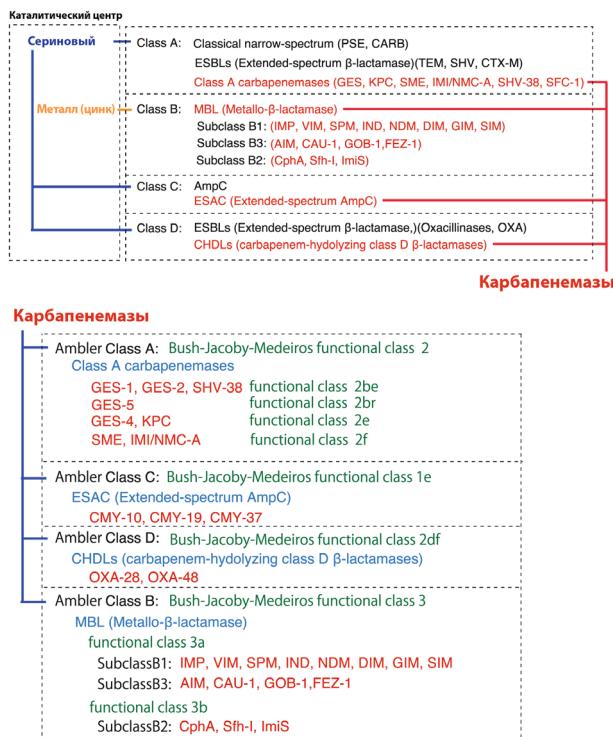


Рисунок 6 | Классификация карбапенемаз.

Карбапенемазы представлены во всех классах, от A до D, системы классификации Амблера.

транспозоны Tn2006/Tn2007 для OXA-23) и легко распространяются среди госпитальных штаммов *A. baumannii*. Следует отметить, что оксациллиназы класса D, как правило, не чувствительны к клавулонату и другим ингибиторам старого поколения.² Новый ингибитор авибактам способен частично подавлять некоторые OXA (в частности, OXA-48), что используется на практике в комбинации цефтазидим-авибактам для лечения инфекций, вызванных OXA-48-продуцентами.⁵ В целом, распространение OXA-карбапенемаз, особенно в сочетании с другими механизмами резистентности, существенно ограничивает эффективность β -лактамов.

МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ β -ЛАКТАМАЗ

β -Лактамные антибиотики уничтожают бактерии, связываясь с их ферментами синтеза клеточной стенки — пенициллин-связывающими белками (ПСБ), которые имеют в активном центре серин. ПСБ представляют собой ферменты с транспептидазной и карбоксипептидазной активностью, участвующие в финальных этапах синтеза пептидогликана — поперечной сшивке его цепей и удалении концевых аминокислот. В результате β -лактам присоединяется к ПСБ (образуя ковалентный ацил-фермент), и жизненно важный фермент блокируется, что приводит к гибели клетки. β -Лактамазы действуют по схожему принципу, но с обратным исходом: они тоже присоединяют молекулу β -лактама к своему активному центру (формируя комплекс фермент–антибиотик), однако затем быстро гидролизуют (расщепляют) β -лактамное кольцо и высвобождают инактивированный антибиотик. Иными словами, β -лактамаза выступает как ловушка: она необратимо (в рамках жизни бактерии) нарушает структуру антибиотика, при этом сам фермент регенерируется и может разрушать следующие молекулы. На химическом уровне сериновые β -лактамазы осуществляют нуклеофильное присоединение β -лактама к активному серину с образованием ацил-энзима, после чего молекула воды гидролизует этот ковалентный комплекс, разрывая β -лактамное кольцо.⁶ Для β -лактамаз эта реакция протекает очень быстро (в миллисекундных масшта-

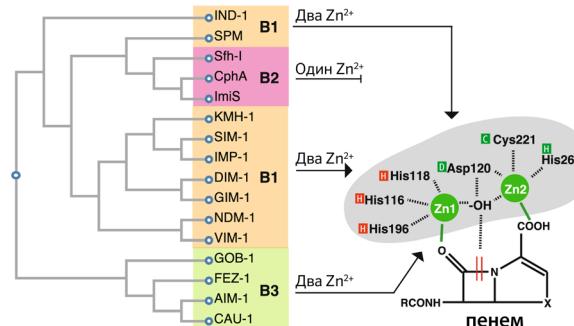
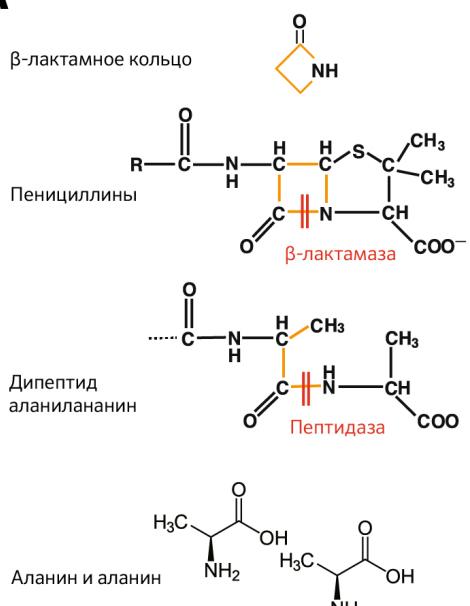


Рисунок 7 | Филогенетическое дерево семейства металло- β -лактамаз класса B.

Металло- β -лактамазы (MBL) подразделяются на три подкласса (B1, B2, B3) на основе их аминокислотных последовательностей. Подклассы B1 и B3 характеризуются наличием двух молекул Zn²⁺ в активном центре фермента, что обеспечивает более широкий спектр субстратов. В то же время подкласс B2, имеющий только одну молекулу Zn²⁺ в активном центре, обладает более узким спектром субстратов по сравнению с подклассами B1 и B3.

А



Б

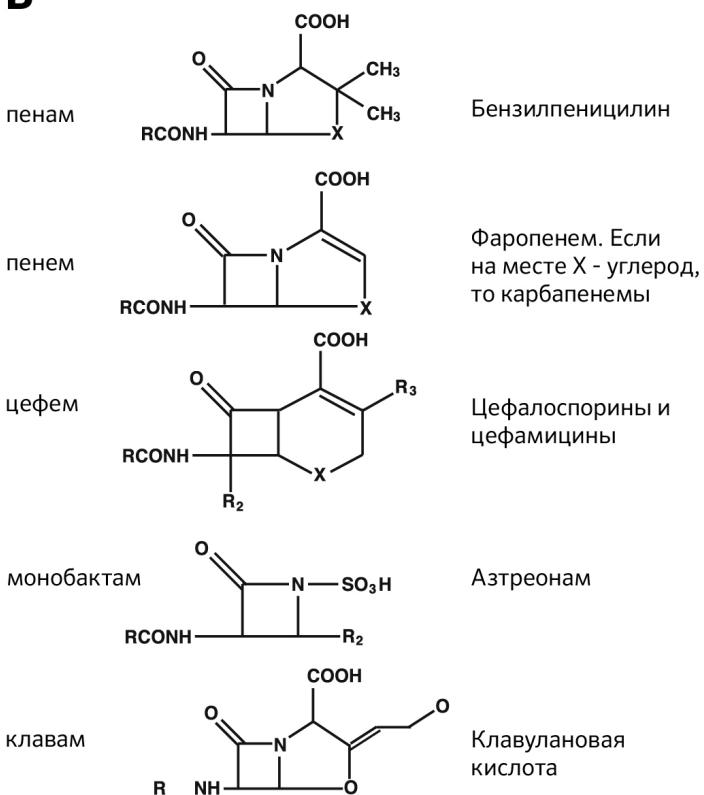


Рисунок 8 | Ферментативное действие β-лактамазы.

А) β-Лактамное кольцо является основной структурой β-лактамных антибиотиков. β-Лактамазы подавляют антибактериальное действие, расщепляя структуру $-\text{CO}-\text{NH}$ β-лактамного кольца, которая схожа с пептидом $-\text{CO}-\text{NH}$ в аланилананин, из которого формируются перекрестные связи пептидогликана. Таким образом, β-лактамы имитируют аланилананин в структу-

ре пептидогликана. Следовательно, β-лактамаза является протеазой (пептидазой).

Б) Клинически используемые β-лактамы можно классифицировать по пяти основным фармакофорам, способным проявлять различную антимикробную активность. Справа указаны представители.

бах), тогда как для ПСБ разрыв связи происходит крайне медленно, поэтому ПСБ фактически необратимо блокируются антибиотиком. Таким образом, разница между мишенью и β-лактамазой — в скорости гидролиза: β-лактамаза действует как высокоэффективный катализатор, нейтрализуя антибиотик до того, как он достигнет ПСБ. Металло-β-лактамазы (Ambler класс B) используют иной механизм: в их активном центре один или два иона цинка координируют поляризацию β-лактамного амидного соединения и молекулы воды, что приводит к атаке молекулы воды на карбонильный центр β-лактама и его разрыву без образования ацил-фермента. Конечный результат тот же — разрыв четырехчленного β-лактамного кольца и превращение антибиотика в неактивный продукт. Все β-лактамазы ускоряют добавление молекулы воды к β-лактамному кольцу, тем самым «размыкая» его и лишая антибиотик способности ингибировать ПСБ.^{2,13}

ся между разными штаммами и видами бактерий (например, посредством конъюгации).¹³ Это приводит к быстрому распространению резистентности: так, появление гена *blaCTX-M-15* (БРЛС класса A) в плазмidaх *E. coli* и других энтеробактерий вызвало глобальную пандемию устойчивых к цефалоспоринам штаммов в 2000-х годах. Нередко у одного и того же клинического изолята обнаруживается сочетание нескольких β-лактамаз разных типов, что значительно расширяет спектр его резистентности.² Например, *Klebsiella pneumoniae* может одновременно продуцировать БРЛС (гидролизующий цефалоспорины) и ОХА-48 (карбапенемазу), или *P. aeruginosa* — сразу несколько ферментов (AmpC + VIM и т.д.). В таких случаях суммарная активность β-лактамаз делает бактерию нечувствительной практически ко всем β-лактамным антибиотикам. Кроме того, β-лактамазные механизмы часто комбинируются с другими механизмами резистентности. Грамотрицательные бактерии могут снизить проницаемость своей клеточной стенки (утрата пориновых белков) и активнее выкачивать антибиотики (эффлюкс-помпы), что усиливает эффект β-лактамаз. Например, потеря поринов в клеточной стенке *K. pneumoniae* или *Salmonella* на фоне продукции плазмидной AmpC-β-лактамазы приводит к возникновению резистентности даже к карбапенемам.² В других случаях приобретение мутантных РВР (как PBP2a у MRSA) или модификация мишени дополняют действие β-лактамаз, делая бактерию невос-

РОЛЬ β-ЛАКТАМАЗ В РАЗВИТИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

Производство β-лактамаз — один из главных факторов, обуславливающих устойчивость бактерий к бета-лактамам. Многие опасные патогены, такие как кишечные палочки, клебсиеллы, синегнойная палочка и пр., приобрели гены β-лактамаз на плазмidaх, которые легко распространяют-

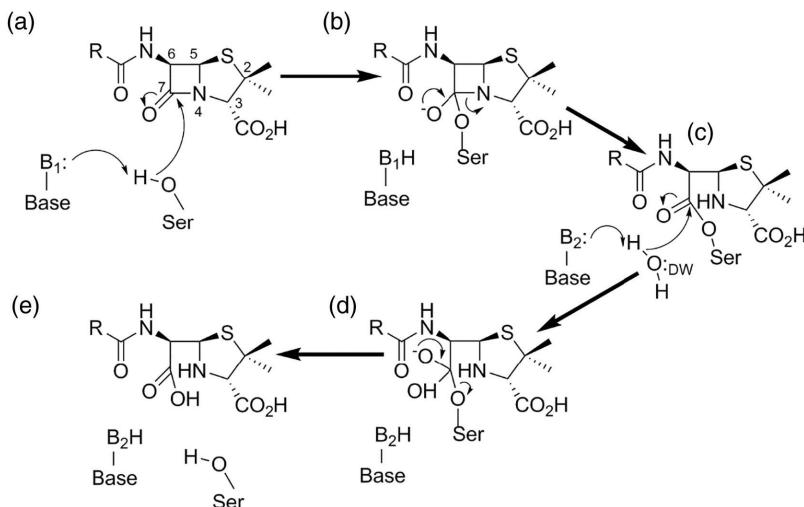


Рисунок 9 | Механистическая схема работы сериновых β -лактамаз.

На рисунке показан гидролиз обобщенного пенициллинового субстрата. (а) Общее основание В1 активирует серин (Ser) для нуклеофильной атаки на амидный карбонильный атом углерода (С7), что приводит к образованию ковалентного ацилферментного промежуточного продукта (с) через тетраэдрическое

оксиационное переходное состояние ацилирования (б). Общее основание В2 активирует молекулу деацетилирующей воды (DW) для нуклеофильной атаки на карбонильную группу ацилфермента, высвобождая продукт - пенициллоат (е) через тетраэдрическое переходное состояние деацетилирования (д).

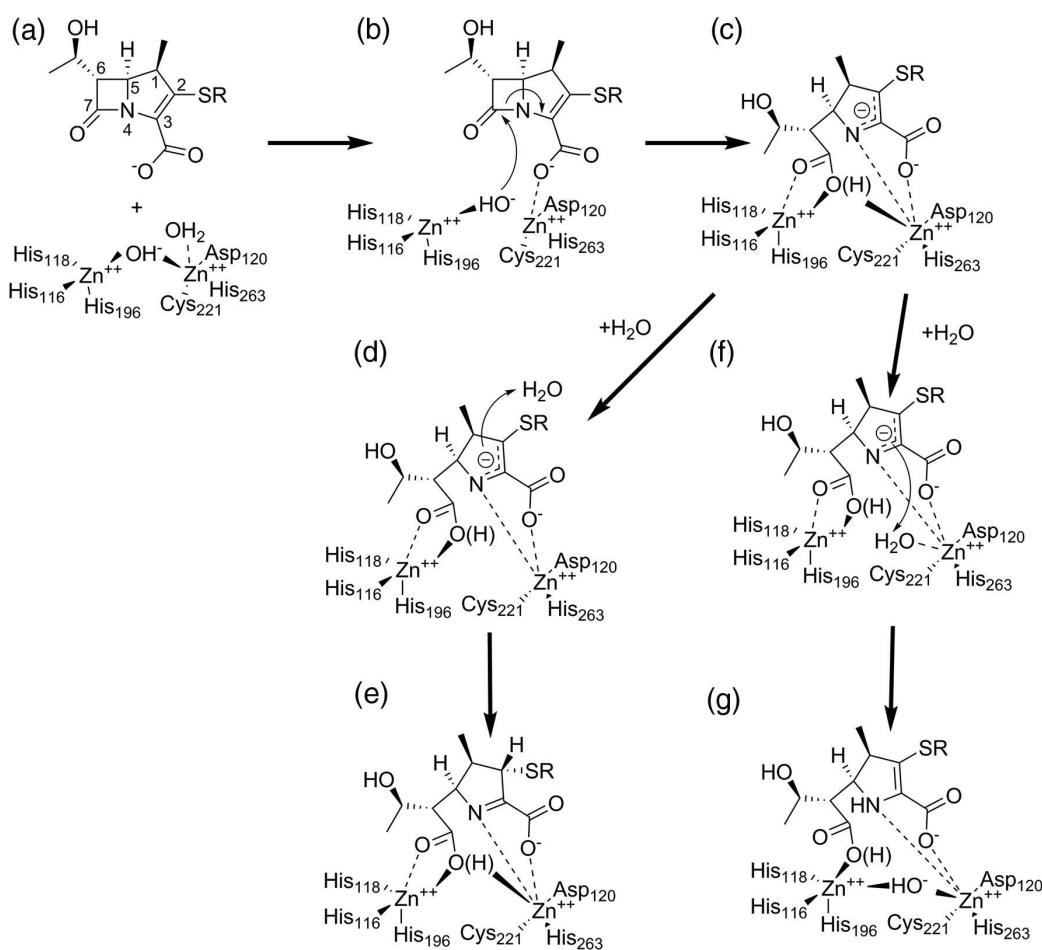


Рисунок 10 | Возможный механизм гидролиза карбапенемов бинуклеарными металло- β -лактамазами класса В.

(а) Связывание субстрата вытесняет гидроксид Zn-мостика в терминальное положение (б), что позволяет атаковать расщепляемый карбонил. (с) Анионный промежуточный продукт с делокализованным отрицательным зарядом вокруг пирролинового кольца разрешается либо (д) протонированием на C2

свободными молекулами воды, образуя (е) Δ 1-пирролин, либо (ф) протонированием на N4 поступающей водой в позиции мостика, образуя (г) Δ 2-пирролиновый продукт. (Обратите внимание, что, как показано, связанная с Zn «апикальная» вода вытесняется субстратом; в некоторых предложениях указано, что при связывании субстрата она перемещается в позицию мостика).

Таблица 2 | Клинически значимые β-лактамазы различных классов

Класс (Ambler)	Механизм фермента	Примеры β-лактамаз	Характеристика и спектр действия
A	Сериновая β-лактамаза (активный серин)	TEM-1, SHV-1, CTX-M-15, KPC-2 и др.	Широкий спектр: гидролизуют пенициллины и многие цефалоспорины. Мутантные варианты (ESBL) расщепляют цефалоспорины III поколения и азtreонам. Некоторые являются карбапенемазами (например, KPC). Большинство ингибитируются клавулановой кислотой и др. ингибиторами.
B	Металло-β-лактамаза (требует Zn ²⁺)	NDM-1, VIM-2, IMP-1 и др.	Гидролизует широкий спектр β-лактамов, включая карбапенемы. Не чувствительна к классическим ингибиторам (клавуланат и др.). Характерно отсутствие активности против монобактамов (азtreонама).
C	Сериновая цефалоспориназа (AmpC-типа)	AmpC (хромосомная цефалоспориназа Enterobacteriaceae), CMY-2, DHA-1 и др. плазмидные AmpC	Гидролизует цефалоспорины II–III поколений и цефамицины; слабее действует на карбапенемы. Часто хромосомные (например, у <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i>) с индуцибелной экспрессией; также встречаются плазмидные варианты. Не ингибитируется клавуланатом, но подавляется ингибиторами новой генерации (авибактам и др.).
D	Сериновая оксациллиназа	OXA-1, OXA-10, OXA-48, OXA-23 и др.	Разнообразная группа ферментов. Некоторые узкого спектра (гидролизуют преимущественно оксациллин/клоксациллин и пенициллины), другие приобрели расширенный спектр (OXA-11, -14 и др. способны гидролизовать цефалоспорины), а отдельные являются карбапенемазами (OXA-48 у <i>Enterobacterales</i> , OXA-23 у <i>Acinetobacter</i> и др.). Ингибитируются клавуланатом слабо; отдельные представители (OXA-48) подавляются авибактамом

приимчивой к большинству доступных β-лактамов. В результате, во многих больницах появились мультирезистентные штаммы, продуцирующие одновременно β-лактамазы разных классов и обладающие устойчивостью к нескольким группам антибиотиков. Например, карбапенем-резистентные энтеробактерии с металло-β-лактамазами (NDM, VIM) обычно также несут гены ферментов БРЛС/AmpC и другие гены устойчивости, обеспечивая резистентность ко всем β-лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам и др.¹ Такая комбинация механизмов серьёзно ограничивает выбор эффективной терапии и повышает летальность инфекций.

ОСНОВНЫЕ β-ЛАКТАМАЗЫ У БАКТЕРИЙ ГРУППЫ ESKAPE

В группу ESKAPE входят шесть проблемных патогенов, ответственных за большинство внутрибольничных инфекций и отличающихся множественной устойчивостью: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.* (наименование ESKAPE образовано первыми буквами латинских родов). Роль β-лактамаз в резистентности у этих возбудителей неодинакова:

Enterococcus faecium

Enterococcus faecium — кишечный грамположительный кокк, природно устойчивый ко многим β-лактамам. Устойчивость энтерококков к пенициллину/ампициллину чаще связана с аномально низким сродством ПСБ (мутация PBP5) и образованием слабосвязывающих пенициллин-связывающих белков. Собственные β-лактамазы энтерококки производят редко; тем не менее у некоторых штаммов *E. faecalis* описана плазмидная пенициллиназа (аналогичная стафилококковой), придающая им устойчивость к пенициллину, но подавляемая ингибиторами. В целом же вклад β-лактамаз в антибиотикорезистентность энтерококков невелик — куда более актуальны модификации ПСБ и устойчивость к гликопептидам (ванкомицину). Такие штаммы обозначаются как VRE (Vancomycin-Resistant Enterococci)

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus — один из ключевых нозокомиальных возбудителей. *S. aureus* — грамположительный кокк, против которого изначально был чрезвычайно эффективен пенициллин, однако уже через несколько лет после начала его применения ситуация изменилась. *S. aureus* быстро приобрел плазмиду с геном β-лактамазы (фермента β-лактамазы класса A, известного как пенициллиназа BlaZ), и уже к 1950-м более 80 % изолятов стафилококков были пенициллин-резистентными.¹⁴ В современной популяции *S. aureus* свыше 90 % штаммов производят β-лактамазу BlaZ,⁵ вследствие чего естественные пенициллины (пенициллин G, ампициллин) практически не применяются для стафилококковых инфекций. Проблему частично решили разработкой β-лактамазоустойчивых пенициллинов (метициллина, оксациллина и др.), однако в 1960-х появился новый механизм резистентности — измененный PBP2a, не чувствительный к связыванию β-лактамами (MRSA). Тем не менее β-лактамаза остается важным фактором: *S. aureus* по-прежнему сохраняет ген blaZ на мобильном элементе (транспозоне), часто в составе мультирезистентных плазмид.⁵ Этот фермент гидролизует пенициллин и аминопенициллины, а также ослабляет действие цефалоспоринов 1-го поколения, но подавляется клавулановой кислотой, поэтому оксациллинчувствительные стафилококки обычно успешно лечатся ингибиторзащищенными пенициллинами. Для лечения же MRSA требуются совсем другие группы антибиотиков (ванкомицин, линезолид и др.), так как β-лактамазы не играют роли при метициллинорезистентности.

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae — грамотрицательная энтеробактерия, один из самых известных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, производящих β-лактамазы. *K. pneumoniae* обладает врожденной хромосомной β-лактамазой широкого спектра SHV-1 (Amber класс A), которая обеспечивает природную устойчивость к ампициллину. В дополнение к этому, клебсиеллы легко приобретают плазмидные β-лактамазные гены. Начиная с 1980-х основными проблемами стали БРЛС (например, TEM- и SHV-мутанты,

а затем семейство CTX-M) — их распространение привело к неэффективности цефалоспоринов III поколения при многих госпитальных штаммах *Klebsiella*.² В 2000-х появилась еще более грозная угроза — карбапенемазы. *K. pneumoniae* стала первой энтеробактерией, в котором выявили плазмидную карбапенем-гидролизующую β -лактамазу KPC.¹³ Вслед за KPC у клебсиелл появились и другие карбапенемазы: металло- β -лактамазы (NDM, VIM) и OXA-48. Сегодня *K. pneumoniae* считается корифеем по части β -лактамаз: в отдельных штаммах находят сразу несколько ферментов (например, одновременно KPC и VIM, или OXA-48 и CTX-M и т.д.). Эти механизмы в совокупности делают многих клебсиелл практически неуязвимыми к β -лактамным антибиотикам. Всемирная организация здравоохранения отнесла карбапенем-резистентные *K. pneumoniae* к патогенам критического приоритета. Для успешного лечения инфекций, вызванных такими штаммами, требуются комбинированные препараты с новыми ингибиторами (про них — далее в тексте).

Acinetobacter baumannii

Acinetobacter baumannii — неферментирующая грамотрицательная палочка, один из ведущих возбудителей госпитальных пневмоний, сепсиса у реанимационных больных. *A. baumannii* обладает поразительной способностью развивать резистентность. Главный механизм устойчивости к β -лактамам у этого патогена — продукция карбапенемаз OXA-класса D. Известно несколько групп ферментов: OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 и др., которые распространяются клонами *A. baumannii* по всему миру.¹³ Эти β -лактамазы не родственные по происхождению OXA-48 энтеробактерий, но функционально сходны: они инактивируют карбапенемы, зачастую не затрагивая расширенные цефалоспорины (поэтому *Acinetobacter* может оставаться чувствительным к цефтазидиму, но устойчивым к имипенему). Помимо OXA, у *A. baumannii* описаны и металло- β -лактамазы (NDM, VIM), однако они встречаются реже. Еще один фермент — хромосомная цефалоспориназа AmpC (ADC) класса C — тоже присутствует у всех ацинетобактеров, но его роль в резистентности второстепенна по сравнению с карбапенемазами. В силу множественной лекарственной устойчивости (как β -лактамной, так и за счет эфлюкса, поринов и пр.) *A. baumannii* включен в число особо опасных патогенов, против которых срочно нужны новые антибиотики. Лечение тяжелых инфекций, вызванных карбапенем-резистентным *Acinetobacter* (Carbapenem-resistant *A. baumannii* (CRAB)), крайне затруднено; применяют комбинации полимиксинов, тигециклина, высоких доз сульбактама и новые препараты (например, цефалоспорины с ингибитором дулобактамом).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa — еще один неферментер (неферментеры — это грамотрицательные палочки, которые не ферментируют глюкозу в анаэробных условиях. К ним относятся также *Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia* и другие.), грозный оппортунистический патоген. *P. aeruginosa* обладает природной устойчивостью ко многим антибиотикам за счет малой проницаемости внешней мембранны и активных эфлюкс-систем. В отношении β -лактамов у синегнойной палочки главную роль играет хромосомная AmpC- β -лактамаза (Ambler класс C), также называемая

пенициллиназой типа PDC. Базально она экспрессируется слабо, но у мутантных штаммов или под действием индукторов уровень синтеза AmpC/PDC резко возрастает, что приводит к устойчивости к карбоксипенициллинам, большинству цефалоспоринов и ингибитор-защищенным пенициллинам. Таким образом, у *P. aeruginosa* может развиться резистентность к цефтазидиму, пиперациллину/тазобактаму и др. за счет гиперпродукции AmpC. В отличие от энтеробактерий, классических плазмидных БРЛС типа CTX-M у синегнойной палочки не встречается, однако описаны свои разновидности β -лактамаз расширенного спектра (PER, VEB, GES и др., Ambler класс A). Кроме того, *P. aeruginosa* нередко получает плазмиды с карбапенемазами — прежде всего металло- β -лактамазами VIM и IMP, реже NDM. В некоторых географических регионах до 20–30 % карбапенем-резистентных штаммов синегнойной палочки производят MBL. В совокупности перечисленные механизмы делают *P. aeruginosa* трудноподдающимся терапии патогеном, особенно у ослабленных и реанимационных пациентов (где распространены так называемые XDR-штаммы с экстремальной резистентностью). Для лечения тяжелых инфекций, вызванных *Pseudomonas*, нередко требуются комбинации (например, цефтазидим/авибактам + азtreонам, цефтолозан/тазобактам и др.).^{2,13}

Enterobacter spp.

Enterobacter spp. — под этим названием обычно подразумеваются виды *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *E. aerogenes* (ныне *Klebsiella aerogenes*) и родственные. Они, как и цитробактер, серрация, имеют индуцируемую хромосомную AmpC- β -лактамазу (Ambler класс C), которая при мутациях derepression начинает постоянно выражаться в больших количествах.¹³ Такие мутанты появляются спонтанно под влиянием β -лактамных антибиотиков и объясняют феномен «прорыва» терапии цефалоспоринами: например, при лечении *Enterobacter* цефалоспорином третьего поколения сначала может наблюдаться улучшение, а затем состояние ухудшается из-за селекции штамма с гиперпродукцией AmpC и инактивацией препарата. Поэтому инфекции, вызванные *Enterobacter*, не рекомендуется лечить цефтриаксоном и цефотаксимом — предпочтительны карбапенемы или цефепим, менее подверженный гидролизу AmpC. Помимо хромосомной AmpC, энтеробактеры способны получать плазмиды с β -лактамазами: у них встречаются БРЛС (CTX-M, TEM и др.), а с 2010-х ширится распространение карбапенемаз (KPC, NDM и др.), часто в составе конгломерата генов (например, плазмиды с bla_KPC также несут гены БРЛС). Карбапенем-резистентные *Enterobacter* наряду с карбапенем-резистентными клебсиеллами и эшерихиями отнесены к критическим патогенам по классификации ВОЗ.

Shigella spp.

Shigella spp. — близкородственный *E. coli* род, вызывающий бактериальную дизентерию. Исторически *Shigella* быстро приобрели плазмидные β -лактамазы узкого спектра, что сделало их устойчивыми к ампициллину еще во второй половине XX века. К примеру, многие изоляты *Shigella dysenteriae* и *S. flexneri* производят TEM-1 или OXA-1, обеспечивая резистентность к ампициллину и амоксициллину. В клинике это привело к отказу от ампициллина как терапии шигеллеза. Вместо него предпочтение отдали ко-тримок-

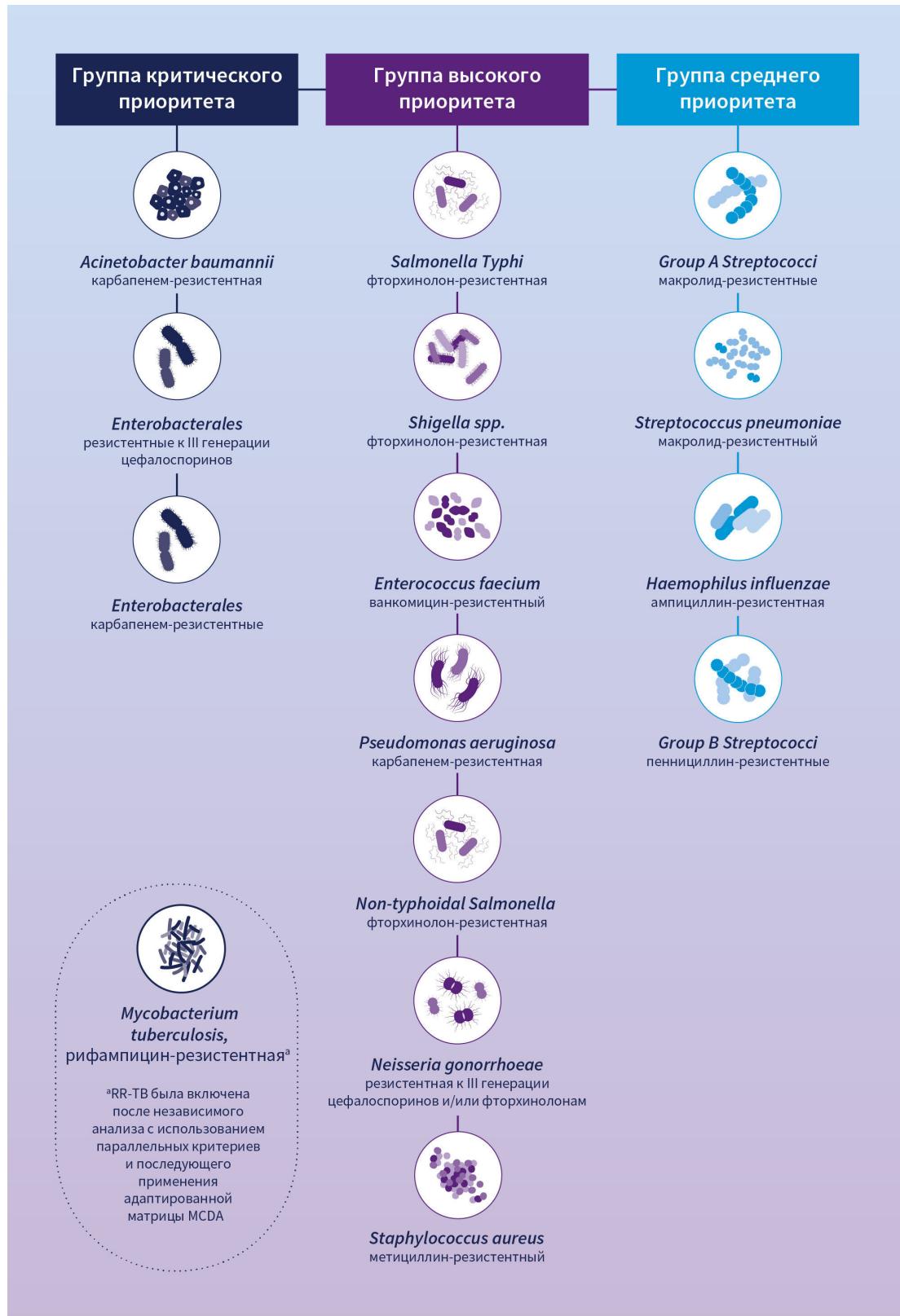


Рисунок 11 | Список лекарственно-устойчивых бактерий, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека согласно ВОЗ, 2024.

сазолу, фторхинолонам или цефалоспоринам. Однако со временем у шигелл по всему миру стали появляться β -лактамазы расширенного спектра. Сейчас зарегистрированы штаммы *Shigella sonnei* и *S. flexneri*, продуцирующие CTX-M типы ESBL (например, CTX-M-15, -14 и др.). Это приводит к устойчивости ко всем цефалоспоринам III поколения — традиционному резерву при тяжелом течении шигеллеза у детей. Также описаны случаи приобретения плазмид AmpC (CMY-2) шигеллами, хотя реже, чем у сальмонелл.²⁰

Salmonella spp.

Salmonella spp. — *Salmonella enterica* (тифозные и нетифозные серовары) приобрела широкий набор β -лактамаз, влияющих на эффективность терапии. В 1980–90-х у кишечных сальмонелл (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*) распространились плазмидные TEM-1 и PSE-1, обеспечив устойчивость к ампициллину и карбоксипенициллинам. У *S. Typhi* множественная резистентность была связана с плазмидами, содержащими TEM-1 и гены устойчивости к другим препаратам, что привело к отказу от ампициллина и хлорамфеникола. Серьезной проблемой стало распространение устойчивости к цефтриаксону. Основные механизмы — продукция БРЛС (чаще CTX-M-15) и плазмидной AmpC (чаще CMY-2). Эти β -лактамазы выявлены у различных сероваров *Salmonella* по всему миру. Особенно часто CMY-2 встречается в США и Европе. Описаны также единичные случаи карбапенемаз (например, NDM-1 у *S. Typhimurium* в Индии).^{20,21}

N. gonorrhoea

N. gonorrhoea — гонококк изначально была чувствительна к пенициллину, но уже в 1970-х появились штаммы, производящие плазмидные β -лактамазы типа TEM-1 (PPNG — penicillinase-producing *N. gonorrhoeae*), разрушающие пенициллины и их производные. Распространение гена bla_{TEM} привело к отказу от пенициллина и переходу на цефалоспорины III поколения (например, цефтриаксон). Кроме β -лактамаз, у гонококков выявлены хромосомные мутации, повышающие минимальную ингибирующую концентрацию (MIC) пенициллина — мозаичные аллеи гена repA (модифицированный РВР2) и мутации в регуляторных участках насоса mtrCDE, снижающие проникновение препарата. Такие штаммы обозначают как CPRNG — chromosomally mediated penicillin-resistant *N. gonorrhoeae*. Однако выраженная резистентность (>16 ЕД пенициллина) чаще обусловлена именно продукцией β -лактамазы. Таким образом, у *N. gonorrhoeae* обладает несколькими механизмами резистентности: β -лактамазы играют важную, но не основную роль, уступая по значимости хромосомным мутациям в мишениях и системах транспорта.²⁰

Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae — частый возбудитель респираторных инфекций — активно продуцирует β -лактамазы. Наиболее распространены плазмидные ферменты класса A: TEM-1 и ROB-1. Они гидролизуют ампициллин и амоксициллин, но чувствительны к ингибиторам (например, клавуланату). К 1990-м годам 15–30% изолятов по миру продуцировали β -лактамазу, а в некоторых странах Азии доля превышала 50%. Более сложный механизм — BLNAR (β -lactamase-negative ampicillin-resistant) — связан с мута-

циями в гене *ftsI*, кодирующем РВР3. Эти штаммы устойчивы к ампициллину, несмотря на отсутствие β -лактамазы. Отдельно выделяют BLPACR (β -lactamase positive, amoxicillin-clavulanate resistant), где сочетаются фермент и модифицированная мишень. К счастью, их доля невелика (<5%). В клинике наличие β -лактамазы исключает применение ампициллина. Предпочтение отдают амоксициллин/клавуланату или цефалоспоринам II–III поколений, активным как против β -лактамазопозитивных, так и против большинства BLNAR. При менингите используют цефотаксим или цефтриаксон. Лабораторно маркером β -лактамазы служит положительный тест с нитроцефином. Однако отрицательный результат не исключает BLNAR — такие штаммы выявляются по повышенному MIC при отсутствии фермента. Вне Японии доля BLNAR остается умеренной (до 10%).

ПОЧЕМУ β -ЛАКТАМАЗЫ ЧАЩЕ ВСТРЕЧАЮТСЯ У ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ?

Отчетливо заметна разница между грамположительными и грамотрицательными бактериями в стратегии противодействия β -лактамным антибиотикам. Грамположительные (*Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* и др.) имеют толстую клеточную стенку, но не обладают внешней мембраной. Если они продуцируют β -лактамазу, этот фермент выделяется во внешнюю среду и может диффундировать. В результате часть молекул антибиотика действительно инактивируется, но другая часть все же достигает бактериальных ПСБ и блокирует синтез стенки. Поэтому у грамположительных эволюционно менее выгодно производство β -лактамаз (эффект недостаточно полный), и основной путь приобретенной резистентности у них — модификация мишени. Так, *Streptococcus pneumoniae* вырабатывает измененные пенициллин-связывающие белки, понижающие сродство ко всем β -лактамам, что делает его устойчивым (при этом никаких β -лактамаз у пневмококка нет). *S. aureus* после эпохи пенициллинизации BlaZ тоже преодолел метициллин за счет мутантного РВР2a, а не новой β -лактамазы. Грамотрицательные бактерии, напротив, имеют тонкую клеточную стенку, окруженную внешней мембраной, образующей перiplазматическое пространство — замкнутую среду вокруг клеточной стенки. β -Лактамазы у грамотрицательных локализуются именно в перiplазме, где они могут задерживаться в высокой концентрации. Когда через порины внешней мембранные проникает молекула антибиотика, она сразу попадает в «ловушку» перiplазматической β -лактамазы и разрушается до того, как достичь ПСБ на внутренней мембране. Такой механизм очень эффективен, поэтому грам- эволюционно приобрели множество β -лактамаз и широко распространили их гены. К тому же у грамотрицательных плазмиды и другие мобильные элементы горизонтального переноса играют большую роль, что способствует обмену генами β -лактамаз между различными видами.^{13,14} В результате именно среди грамотрицательных (энтеробактерий, неферментеров) мы наблюдаем наибольшее разнообразие β -лактамаз и наиболее выраженные проблемы с лекарственной устойчивостью. У грамположительных же долгое время была известна лишь одна плазмидная β -лактамаза (стафилококковая пенициллиназа), а остальные механизмы (изменение РВР у пневмококков, MRSA, об-

разование толерантных L-форм и др.) преобладали. Тем не менее, ситуацию нельзя упрощать: некоторые грамотрицательные (например, *Mycobacterium tuberculosis*) вообще не имеют β-лактамаз, а некоторые грамположительные (анаэробы типа *Bacteroides fragilis*) как раз производят β-лактамазы (например, фермент СерА у *B. fragilis*). Но в целом, клинически значимые β-лактамазы гораздо чаще встречаются и приносят проблемы именно у грамотрицательных патогенов.

Таблица 3 | Самые изучаемые бета-лактамазы.

β-лактамаза	Класс	Активность	Пути ингибиования	Пути ингибиования	Система экспорта	Микроорганизмы
BPS / PenA	A	Бета-лактамазы расширенного спектра	Классические	Нет	Sec (lipo)	<i>B. pseudomallei</i>
BKC-1	A	Карбапенемазы	Классические	Да	Sec / Tat	<i>K. pneumoniae</i>
BLAC	A	Бета-лактамазы узкого спектра	Нового поколения*	Нет	Tat	<i>M. tuberculosis</i>
CTX-M	A	Бета-лактамазы расширенного спектра	Тазобактам	Да	Sec	<i>Enterobacteriaceae</i>
GES	A	Бета-лактамазы расширенного спектра / карбапенемазы	Классические	Да	Sec	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>P. aeruginosa</i>
KPC	A	Бета-лактамазы расширенного спектра / карбапенемазы	Нового поколения*	Да	Sec	<i>K. pneumoniae</i>
L2	A	Бета-лактамазы расширенного спектра	Классические	Нет	Tat	<i>S. maltophilia</i>
PC1	A	Бета-лактамазы узкого спектра	Классические	Нет	Sec (lipo)	<i>S. aureus, Bacill</i>
TEM	A	Бета-лактамазы узкого спектра / Бета-лактамазы расширенного спектра	Классические	Да	Sec	<i>Enterobacteriaceae</i>
SHV	A	Бета-лактамазы узкого спектра / Бета-лактамазы расширенного спектра	Классические	Да	Sec	<i>K. pneumoniae</i>
IMP	B1	Карбапенемазы	—	Да	Sec	<i>P. aeruginosa</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>A. baumannii</i>
NDM	B1	Карбапенемазы	—	Да	Sec (lipo)	<i>Enterobacteriaceae</i>
VIM	B1	Карбапенемазы	—	Да	Sec	<i>P. aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i>
AIM	B3	Карбапенемазы	—	Да	Sec	<i>P. aeruginosa</i>
L1	B3	Карбапенемазы	—	Нет	Sec	<i>S. maltophilia</i>
AmpC / EC	C	Бета-лактамазы узкого спектра / Бета-лактамазы расширенного спектра	Нового поколения*	Да	Sec	<i>Enterobacteriaceae</i>
DHA-1	C	Бета-лактамазы расширенного спектра	Классические	Да	Sec	<i>M. morganii, S. enteritidis</i> <i>Enterobacteriaceae</i>
CMY	C	Бета-лактамазы расширенного спектра	Нового поколения*	Да	Sec	<i>K. pneumoniae</i> <i>E. coli</i>
OXA-10	D	Бета-лактамазы расширенного спектра	Нового поколения*	Да	Sec	<i>P. aeruginosa</i>
OXA-48	D	Карбапенемазы	Нового поколения*	Да	Sec	<i>K. pneumoniae</i>
OXA-198	D	Карбапенемазы	Нового поколения*	Нет	Sec	<i>P. aeruginosa</i>

Колонка «ингибиование» указывает на чувствительность к классическим ингибиторам, таким как клавулановая кислота, тазобактам или сульбактам, либо к ингибиторам нового поколения, таким как авибактам, ваборбактам и релебактам; символ * обозначает, что только некоторые представители определенной филогенетической группы чувствительны к ингибиции даже этими новыми соединениями. Как видно из колонки «экспорт», большинство ферментов транслокируются через систему Sec, включая β-лактамазы с «липобоксом» (обозначены как «lipo»), которые в конечном итоге локализуются в мембране за счет ацилирования их N-концевого цистеина.

TERAPEVТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

Влияние β-лактамаз на выбор антибиотиков

Наличие у бактерии того или иного гена β-лактамазы существенно влияет на выбор эффективного антибиотика. Врачам важно учитывать характер β-лактамаз при выборе препарата. Например, при инфекциях, вызванных продуцентами БРЛС (расширенного спектра β-лактамаз, чаще всего *E. coli* или *Klebsiella*), установлено, что наилучшие результаты дает терапия карбапенемами. Карбапенемы (ме-

ропенем, имипенем и др.) устойчивы к гидролизу большинством БРЛС,⁸ поэтому являются препаратами выбора для тяжелых инфекций, вызванных БРЛС-продуцирующими энтеробактериями. Напротив, применение цефалоспоринов при таких инфекциях сопряжено с высоким риском неуспеха и селекции резистентных клонов. Аналогично, при инфекциях, вызванных бактериями с мощными AmpC-β-лактамазами (например, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*), неэффективны многие пенициллины и цефалоспорины, особенно третьего поколения.² Предпочтение отдают карбапенемам или цефепиму, который менее подвержен гидролизу AmpC за счет структуры молекулы. В случае грамотрицательных неферментеров (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter*), уже изначально резистентных к ряду β-лактамов, выбор терапии тоже диктуется β-лактамазами: синегнойная палочка, гиперпродуцирующая AmpC, нечувствительна к пиперациллин/тазобактаму и цефтазидиму, но может ответить на карбапенемом или цефепим; *A. baumannii* с ОХА-карбапенемазой не лечится имипенемом, зато может быть чувствительна к комбинации сульбактам + цефалоспорин (цефоперазон, цефепим).

Для клинически значимого подбора терапии ключевую роль играет лабораторная диагностика. По рекомендациям European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), антибиотики-маркеры помогают заподозрить тип β-лактамазы: пенициллин — маркер стафилококковой β-лактамазы; ампициллин ± нитроцефин — маркер у *H. influenzae*; цефотаксим/цефтазидим ± клавуланат — маркер ESBL у *Enterobacteriales*; цефокситин — для AmpC; карбапенемы с ингибиторами — для карбапенемаз. Грамотная интерпретация этих тестов позволяет вовремя перейти на эффективную терапию и избежать неудачи лечения.

Ингибиторы β-лактамаз и новые комбинации

Для борьбы с бактериальными β-лактамазами были разработаны специальные ингибиторы β-лактамаз — вещества, необратимо блокирующие активность фермента. Клавулановая кислота, сульбактам и тазобактам — первые ингибиторы, внедренные в практику. Они значительно расширили спектр действия пенициллинов и цефалоспоринов при лечении инфекций, вызванных продуцентами β-лактамаз класса A. Так, комбинации амоксициллин/клавуланат, пиперациллин/тазобактам, ампициллин/сульбактам эффективно действовали на штаммы, продуцирующие узкоспекторные β-лактамазы (TEM-1, SHV-1) и многие БРЛС. Однако ингибиторы первого поколения не активны против большинства ферментов классов B, C и D. Поэтому при появлении у бактерий AmpC, металло-β-лактамаз или ОХА-оксациллиаз эффективность старых ингибиторзащищенных комбинаций резко падала.²

Среди этих веществ особое место занимает сульбактам, обладающий двойным действием: он не только ингибирует ферменты класса A, но и проявляет собственную бактерицидную активность против *Acinetobacter baumannii*, связываясь с его PBP-1a, -1b и -3. Это делает его «адресным» антибиотиком. Появление карбапенем-резистентных штаммов *A. baumannii* вновь вернуло интерес к сульбактаму, особенно в виде новой комбинации с дурлобактамом — мощным ингибитором β-лактамаз классов A, C и D. В 2023 году фиксированная комбинация сульбактам/дурлобактам

была одобрена FDA для лечения инфекций, вызванных CRAB (carbapenem-resistant *A. baumannii*).^{24,25}

В 2010-х годах произошел прорыв: были созданы новые ингибиторы несравнимо большей мощности и спектра. К ним относятся: авибактам и родственные диазабициклические таноны (ингибируют класс A, C и часть D),² ваборбактам (бороновый ингибитор, активный против KPC и др.), релебактам (ингибитор, комбинируемый с имипенемом). Уже одобрены и применяются несколько новых комбинаций: цефтазидим/авибактам, меропенем/ваборбактам, имипенем/циластатин/релебактам. Особое значение они имеют для лечения инфекций, вызванных карбапенем-резистентными энтеробактериями с KPC-карбапенемазами, в частности, введение авибактама и других новых ингибиторов значительно улучшило исходы у пациентов с такими инфекциями.¹¹ Новые ингибиторы эффективно «воскрешают» действие соответствующих β-лактамов против многих устойчивых патогенов. Например, авибактам блокирует KPC и ОХА-48, благодаря чему комбинация цефтазидим/авибактам активна против продуцирующих их *K. pneumoniae*; Ваборбактам подавляет KPC, и меропенем/ваборбактам стал ценным оружием против KPC-продуцентов. Однако у этих средств есть ограничения: они не действуют на MBL (NDM, VIM и др.).¹¹ К сожалению, в ряде регионов именно металло-β-лактамазы стали доминирующими (например, NDM широко распространена на Индийском континенте и на Ближнем Востоке).¹¹ Кроме того, наблюдается рост доли MBL и в ответ на широкое применение цефтазидим/авибактама (карбапенемазы KPC подавлены, но нишу занимают MBL).¹¹ Поскольку коммерческих ингибиторов против MBL пока нет,¹⁰ для лечения инфекций, вызванных NDM-/VIM-продуцентами, применяют особые комбинации. Одним из решений стало сочетание монобактама азtreонама с ингибитором авибактамом: азtreонам устойчив к гидролизу MBL, но разрушается другими β-лактамазами, однако присутствующий авибактам защитит азtreонам от БРЛС и AmpC, благодаря чему азtreонам проявит бактерицидный эффект. На практике такую схему реализуют, например, сочетанным введением цефтазидим/авибактама и азtreонама — исследования показали высокую синергичность этой комбинации против MBL-продуцентов.¹¹ В некоторых странах уже доступна фиксированная комбинация азtreонам/авибактам.

Другой ответ на проблему MBL — цефидерокол, сидерофорный цефалоспорин. Его молекула специально модифицирована для проникновения внутрь грамотрицательных бактерий с минимальным сопротивлением. Основу действия составляет механизм «трясянского коня»: бактерия воспринимает молекулу цефидерокола как железосодержащий субстрат и активно транспортирует её внутрь клетки через железозависимые порины. В отличие от других цефалоспоринов, которые пассивно проникают через мембрану, цефидерокол использует энергозависимую систему захвата Fe³⁺, что позволяет ему достигать высокой концентрации в перiplазматическом пространстве. Оказавшись внутри, цефидерокол связывается с ПСБ, нарушая синтез пептидогликана и вызывая лизис клетки — как и другие β-лактамы. Однако его структура дополнительно защищает β-лактамное кольцо от действия ферментов: цефидерокол устойчив к разрушению большинством β-лактамаз, включая сериновые (KPC, OXA) и металло-β-лактамазы (NDM, VIM, IMP).^{4,23}

Это делает его ценным резервным препаратом в терапии инфекций, вызванных панрезистентными грамотрицательными патогенами, особенно *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *Enterobacteriales* с MBL.

Перспективы борьбы с резистентностью

Непрерывное появление новых β -лактамаз заставляет искать дополнительные способы борьбы с ними. Научные группы по всему миру продолжают разрабатывать новые ингибиторы: как вещества β -лактамной структуры, так и принципиально иных химических классов. В стадии клинических испытаний находятся ингибиторы для борьбы с металло- β -лактамазами (например, препараты на основе каптоптрила, бисморфалинового производного ANT431 и др.). Перспективен подход «двойных ингибиторов», сочетающих в одной молекуле активность против сериновых и металло- β -лактамаз. Также ведутся исследования

по созданию вакцин против распространенных β -лактамаз с целью снизить колонизацию продуцентов у пациентов. Рассматриваются возможности применения фаговых ферментов или молекул РНК для подавления генов *bla* у возбудителей. Однако в ближайшей перспективе главными остаются классические пути: разработка новых антибиотиков, устойчивых к существующим β -лактамазам, и новых β -лактамазных ингибиторов. К счастью, за последние годы фармацевтическая индустрия активно взялась за эту проблему. В клинику уже внедряются несколько новых комбинаций β -лактама с ингибитором, а в исследовательском pipeline находится еще больше препаратов.² Таким образом, хотя эра β -лактамных антибиотиков осложнена пандемией β -лактамаз, совместными усилиями ученых и клиницистов продолжается поиск решений, позволяющих удержать преимущество в этой «гонке вооружений» с бактериальной резистентностью.

Источники:

1. Berglund F. [и др.]. An updated phylogeny of the metallo- β -lactamases // The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2021. № 1 (76). С. 117–123.
2. Boyd S. E. [и др.]. Metallo- β -Lactamases: Structure, Function, Epidemiology, Treatment Options, and the Development Pipeline // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2020. № 10 (64). С. e00397-20.
3. Bush K., Bradford P. A. Interplay between β -lactamases and new β -lactamase inhibitors // Nature Reviews. Microbiology. 2019. № 5 (17). С. 295–306.
4. Bush K., Jacoby G. A. Updated Functional Classification of β -Lactamases // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2010. № 3 (54). С. 969–976.
5. Fröhlich C. [и др.]. Evolution of β -lactamase-mediated cefiderocol resistance // The Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2022. № 9 (77). С. 2429–2436.
6. Hirvonen V. H. A., Spencer J., Kamp M. W. van der Antimicrobial Resistance Conferred by OXA-48 β -Lactamases: Towards a Detailed Mechanistic Understanding // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2021. № 6 (65). С. e00184-21.
7. Husna A. [и др.]. Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities // Biomedicines. 2023. № 11 (11). С. 2937.
8. Kaderabkova N. [и др.]. The biogenesis of β -lactamase enzymes // Microbiology (Reading, England). 2022. № 8 (168). С. 001217.
9. Lee N.-Y. [и др.]. Carbapenem Therapy for Bacteremia Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Escherichia coli or Klebsiella pneumoniae: Implications of Ertapenem Susceptibility // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2012. № 6 (56). С. 2888–2893.
10. Lowy F. D. Antimicrobial resistance: the example of Staphylococcus aureus // Journal of Clinical Investigation. 2003. № 9 (111). С. 1265–1273.
11. Mugnier P. D. [и др.]. Worldwide Dissemination of the blaOXA-23 Carbenemase Gene of Acinetobacter baumannii // Emerging Infectious Diseases. 2010. № 1 (16). С. 35–40.
12. Naas T. [и др.]. Beta-lactamase database (BLDB) – structure and function // Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2017. № 1 (32). С. 917–919.
13. Shi C. [и др.]. Approaches for the discovery of metallo- β -lactamase inhibitors: A review // Chemical Biology & Drug Design. 2019. № 2 (94). С. 1427–1440.
14. Shields R. K., Doi Y. Aztreonam Combination Therapy: An Answer to Metallo- β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria? // Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. 2020. № 4 (71). С. 1099–1101.
15. Tooke C. L. [и др.]. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century // Journal of Molecular Biology. 2019. № 18 (431). С. 3472–3500.
16. Yousefi B. [и др.]. Cefiderocol in Combating Carbapenem-Resistant Acinetobacter baumannii: Action and Resistance // Biomedicines. 2024. № 11 (12). С. 2532.
17. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century - PubMed [Электронный ресурс]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30959050/> (дата обращения: 13.03.2025).
18. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management - PMC [Электронный ресурс]. URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4451395/> (дата обращения: 13.03.2025).
19. β -lactamase Database [Электронный ресурс]. URL: <https://ifr48.timone.univ-mrs.fr/beta-lactamase/public/> (дата обращения: 13.03.2025).
20. Husna, A., Rahman, M. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, M. T., Alam, J., & Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. Biomedicines, 11(11), 2937. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>
21. Philippon, A., Arlet, G., & Jacoby, G. A. (2002). Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. Antimicrobial agents and chemotherapy, 46(1), 1–11. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.1.1-11.2002>
22. Ekinci, E., Willen, L., Rodriguez Ruiz, J. P., Maertens, K., Van Heirstraeten, L., Serrano, G., Wautier, M., Deplano, A., Goossens, H., Van Damme, P., Beutels, P., Malhotra-Kumar, S., Martiny, D., & Theeten, H. (2023). Haemophilus influenzae carriage and antibiotic resistance profile in Belgian infants over a three-year period (2016–2018). Frontiers in microbiology, 14, 1160073. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160073>
23. Wu, J. Y., Srinivas, P., & Pogue, J. M. (2020). Cefiderocol: A Novel Agent for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Organisms. Infectious diseases and therapy, 9(1), 17–40. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00286-6>
24. Wu, J. Y., Srinivas, P., & Pogue, J. M. (2020). Cefiderocol: A Novel Agent for the Management of Multidrug-Resistant Gram-Negative Organisms. Infectious diseases and therapy, 9(1), 17–40. <https://doi.org/10.1007/s40121-020-00286-6>
25. Papp-Wallace, K. M., McLeod, S. M., & Miller, A. A. (2023). Durlobactam, a Broad-Spectrum Serine β -lactamase Inhibitor, Restores Sulbactam Activity Against Acinetobacter Species. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 76(Suppl 2), S194–S201. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad095>

