РЕЗИСТЕНТНІСТЬ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ДО ФТОРХІНОЛОНІВ

О.А. Журило, А.І. Барбова, М.Т. Клименко, С.О. Черенько, П.С. Трофімова, С.В. Мирончeнко, О.В. Іванкова

Інститут фтизіатрії і пульмонології, Київ

Резюме. У дослідженні протягом 6 міс вивчали чутливість штамів *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) до протитуберкульозних препаратів, виділених у 77 хворих на туберкульоз легень. Первинну резистентність МБТ до фторхінолонів серед даного контингенту встановлено в 1 (1,2%) хворої з вперше діагностованим туберкульозом (ВДТ). Вторинна резистентність МБТ до фторхінолонів розвинулась у 25% хворих на хронічний туберкульоз легень з резистентністю МБТ в середньому до 5,0±0,4 протитуберкульозних препаратів після 8,3±1,6 міс комплексної хіміотерапії із застосуванням фтохінолонів.

Ключові слова: *резистентність, мікобактерії туберкульозу, фторхінолони.*

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ФТОРХИНОЛОНАМ

А.А. Журило, А.И. Барбова, М.Т. Клименко, С.А. Черенько, П.С. Трофимова, С.В. Мирончeнко, Е.В. Иванкова

Резюме. В исследовании на протяжении 6 мес изучали чувствительность штаммов *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) к противотуберкулезным препаратам, выделенных у 77 больных с туберкулезом легких. Первичная медикаментозная резистентность МБТ к фторхинолонам среди данного контингента установлена у 1 (1,2%) больной с впервые выявленным туберкулезом. Вторичная медикаментозная резистентность МБТ к фторхинолонам развилась у 25% больных с хроническим туберкулезом легких с резистентностью МБТ в среднем к 5,0±0,4 противотуберкулезным препаратам после 8,3±1,6 мес комплексной химиотерапии с использованием фтохинолонов.

Ключевые слова: *резистентность, микобактерии туберкулеза, фторхинолоны.*

RESISTANCE OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS TO FLUOROQUINOLONES

O.A. Zhurilo, A.I. Barbova, M.T. Klimenko, S.O. Cherenko, P.S. Trofimova, S.V. Mironchenko, O.V. Ivankova

Summary. In 6 months study the susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) strains to fluoroquinolones, isolated from 77 patients with tuberculosis, was studied. Primary drug resistance to fluoroquinolones in these patients was revealed in 1 (1,2%) patient with newly detected tuberculosis. Secondary drug resistance to fluoroquinolones was registered in 25% of patients with chronic lung tuberculosis with drug resistance (5,0±0,4) to other antituberculous drugs after 8,3±1,6 months of polychemotherapy using fluoroquinolones.

Key words: *drug resistance, Mycobacterium tuberculosis, fluoroquinolones.*

Адреса для листування: *Черенько Світлана Олександрівна*
03680, Київ, узвіз Протасів Яр,7
Інститут фтизіатрії і пульмонології
ім. Ф.Г. Яновського АМН України

ВСТУП

Резистентність *Micobacterium tuberculosis* (МБТ) до протитуберкульозних препаратів — природний феномен, властивий всім бактеріям, який відбувається спонтанно в процесі їх розмноження. Генетичні мутації, внаслідок яких виникає медикаментозна резистентність, відбуваються з частотою 10^{-7}—10^{-10} на 1 поділ бактеріальної клітини, що призводить до появи в бактеріальній популяції 1 резистентного мікроба на 10^{6-8} чутливих мікроорганізмів. Найкращі умови для появи резистентних мутантів є в каверні, де бактеріальна популяція нараховує 10^{7} мікроорганізмів [1]. Якщо генетична мутація відбулася за відсутності антибіотика, до якого вона виникла, то цей штам мікроорганізму не відіграє ніякої ролі в решті мікробної популяції, чутливої до ліків. Але при застосуванні антибіотиків відбувається селекція саме резистентних штамів (оскільки чутливі гинуть під дією протитуберкульозних препаратів), особливо при поширених деструктивних процесах, із дуже великою кількістю мікроорганізмів [2]. У разі неефективного лікування мікроорганізми продовжують розмножуватись, з`являються нові резистентні мутанти. При дуже тривалому розмноженні мультирезистентних бактерій відбувається накопичення мутацій до окремих препаратів, які закріплюються в 2—3 генах [1]. Серед стійких мутантів є мікроби, чутливість яких до ліків коливається від дуже високої до помірної.

За чутливістю до ліків бактеріальна популяція не є однорідною і складається з 3 основних фракцій:

а) чутливі до протитуберкульозних препаратів;
б) МБТ із відносно невисокою стійкістю до протитуберкульозних препаратів. їх розмноження можна припинити шляхом застосування підвищених доз препаратів, до яких виникла резистентність;
в) МБТ, які мають дуже високий ступінь резистентності, розмноження яких можна припинити тільки під дією інших ліків [3].

Під час проведення хіміотерапії співвідношення в мікробній популяції змінюються. Під дією препаратів у чутливих до них МБТ пригнічується життєдіяльність і вони перестають розмножуватись. Резистентні бактерії гинуть під дією препарату, до якого вони чутливі, лише в разі застосування його при лікуванні хворого [4]. Застосування одного або двох препаратів призводить тільки до пригнічення чутливих МБТ, у той час як стійкі мутанти продовжують розмножуватись і починають значно переважати в мікробній популяції [1]. Про перевагу в мікробній популяції резистентних мутантів свідчить наявність на фоні хіміотерапії масивного бактеріовиділення із швидким ростом [4]. Про резистентність до ліків свідчить масивний ріст МБТ (не менше 20 колоній) на щільному поживному середовищі, що містить протитуберкульозні препарати у концентраціях: ізоніазид — 0,2 мг/л, рифампіцин — 32 мг/л, піразинамід — 50 мг/л (в кислому середовищі), стрептоміцин — 32 мг/л, етамбутол — 10 мг/л, офлоксацин — 10 мг/л [5].

Враховуючи значне підвищення резистентності МБТ до протитуберкульозних препаратів, зрозумілий великий інтерес до фторхінолонів, які виявили активність у відношенні до цих збудників [6]. Механізм дії фторхінолонів полягає в пригніченні хромосомних ДНК-гірази і топоізомерази IV — ферментів, відповідальних за стабільність структури мікробної ДНК. Під дією фторхінолонів відбуваються деспіралізація ДНК мікробної клітини та її загибель. Цей механізм дії принципово відрізняється від дії антибіотиків інших класів (у тому числі протитуберкульозних ліків), що обумовлює відсутність перехресної резистентності між фторхінолонами і рештою антимікобактеріальних препаратів [7]. Недостатня ефективність лікування із використанням фторхінолонів обумовлена тим, що у разі резистентності МБТ до 5–7 протитуберкульозних препаратів застосування фторхінолонів у вигляді монотерапії призводить до виникнення резистентності до них через 1 міс лікування у 22% хворих [8]. Дані щодо частоти первинної і вторинної резистентності МБТ до фторхінолонів обмежені і рівень її коливається в різних країнах і у різних контингентів хворих від 5 до 40% [7].

Мета дослідження — визначення частоти первинної і вторинної резистентності до фторхінолонів у хворих на туберкульоз легень.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні протягом 6 міс вивчали чутливість до протитуберкульозних препаратів штамів МБТ, виділених у 77 хворих на туберкульоз легень, які лікувались в Інституті фтизіатрії і пульмонології в 2002 р.

Посів мокротиння хворих на туберкульоз з метою виділення штамів МБТ та визначення їх чутливості до протитуберкульозних препаратів проводили на щільне поживне середовище Левенштейна—Йенсена за методикою, регламентованою Наказом МОЗ України № 45 від 6 лютого 2002 р. Резистентність МБТ до протитуберкульозних препаратів та фторхінолонів визначали за методом абсолютних концентрацій шляхом посіву МБТ, на щільне поживне середовище Левенштейна-Йенсена, яке містило препарати в таких концентраціях: ізоніазид (H) — 1 мкг/мл, рифампіцин (R) — 20 мкг/мл, стрептоміцин (S) та етамбутол (E) — 5 мкг/мл, етіонамід (Et) — 30 мкг/мл, канаміцин (K) — 30 мкг/мл, ципрофлоксацин та офлоксацин (Q) — 10 мкг/мл. Наявність росту МБТ свідчила про їх резистентність до відповідного препарату. До піразинаміду (Z) резистентність МБТ не визначали.

Отримані в 2002 р. значення частоти резистентності до фторхінолонів порівнювали з даними 2001 р., коли цей показник вивчали у 18 хворих на хронічний туберкульоз (ХТ) (18 штамів МБТ). Цих пацієнтів лікували понад 6 міс із застосуванням не менше 3 протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ були чутливі, та фторхінолонів. Виділені 18 штамів МБТ були резистентними до HRS (5 штамів), HRSK (8 штамів), HRSKE (Et) (3 штами), HRSKEEt (2 штами). Вторинну резистентність до фторхінолонів виявили в 1 (5,5%) пацієнта.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Серед 77 хворих на туберкульоз легень, які виділяли МБТ, у 10 (12,9%) встановлено резистентність МБТ до фторхінолонів (табл 1). Первинну резистентність МБТ до фторхінолонів серед даного контингенту виявлено в 1 (1,2%) хворої із вперше діагностованим туберкульозом, яка ніколи раніше не отримувала фторхінолони. Серед 77 хворих протягом від 3 до 16 міс фторхінолони приймали 36 — ципрофлоксацин в дозі 1 г на добу або офлоксацин — 0,8 г на добу 2 рази. У 9 (25%) пацієнтів розвинулась вторинна резистентність.

У всіх 9 (100%) хворих з набутою резистентністю МБТ до фторхінолонів діагностовано ХТ з давністю 2,1±0,4 року (табл. 2). Резистентність МБТ до фторхінолонів розвинулась через 8,3±1,6 міс (від 3 до 16 міс) лікування із застосуванням фторхінолонів у складі комплексної хіміотерапії, у переважної більшості хворих — після 6 міс. У цих хворих також зберігалась мультирезистентність МБТ до 5,0±0,4 протитуберкульозних препаратів 1-го і 2-го ряду, з коливанням від 3 до 6 препаратів

Таблиця 1

Частота медикаментозної резистентності МБТ до фторхінолонів

Резистентність штамів МБТ до протитуберкульозних препаратів	Кількість штамів МБТ		Кількість штамів МБТ, резистентних до фторхінолонів	
	Абс. число	%	Абс. число	%
Немає	40	51,9	1	2,5
До 1–2 препаратів, крім комбінації HR	13	16,8	—	
До HRS	9	11,8	1	11,1
До HRSK, HRSE	6	7,8	2	33,3
До HRSKE, HRSKE,	4	6,5	2	50,0
До HRSKEEt	5	5,2	4	80,0
Всього	77		10	12,9

Таблиця 2

Термін розвитку медикаментозної резистентності до фторхінолонів

Пацієнти, в яких виявлена резистентність МБТ до Q	Термін розвитку медикаментозної резистентності до фторхінолонів (міс)	Форма туберкульозу	Препарати, до яких МБТ були резистентні до розвитку резистентності до фторхінолонів.
1	3	ХТ	HRSKEtE
2	3	ХТ	HRSK
3	6	ХТ	HRSK
4	6	ХТ	HRSKEt
5	9	ХТ	HRSKEt
6	10	ХТ	HRSKEtE
7	12	ХТ	HRS
8	12	ХТ	HRSKEtE
9	16	ХТ	HRSKEtE

(у 4 із 9 хворих виявлено резистентність МБТ до 6 препаратів — HRSKEEt).

При порівнянні отриманих результатів з даними попереднього року, протягом якого вивчали частоту медикаментозної резистентності, виявлено значне підвищення частоти резистентності до фторхінолонів — з 5,5 до 25,0%. Але в 2001 р. визначали появу резистентності лише після 6 міс прийому фторхінолонів. Тому якщо перерахувати частоту резистентності в 2002 р., яка розвинулась через 6 міс прийому фторхінолонів (у 7 з 9 хворих), то вона знизилась з 25,0 до 19,4%. При порівнянні з попередньою частотою резистентності (5,5%) значення 19,4% вірогідно не відрізняється, однак це свідчить про наявність тенденції до зростання резистентності до фторхінолонів при проведенні комплексної хіміотерапії хворих на ХТ.

Зважаючи на те, що резистентність розвивається внаслідок селекції резистентних мутантів МБТ, було проаналізовано частоту виникнення резистентності до фторхінолонів залежно від кількості застосованих протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ були чутливі (табл. 3).

В результаті 10–18-місячного лікування серед 9 хворих на ХТ з резистентністю до фторхінолонів припинення бактеріовиділення досягнуто у 2 (22,2%), у 4 (44,4%) — клініко-рентгенологічне покращання, у 3 (33,3%) хворих відзначено прогресування туберкульозу.

Отже, призначаючи фторхінолони хворим з мультирезистентністю до 5–6 протитуберкульозних препаратів, ми спроможні вилікувати не більше 20% з них, але це сприяє поширенню резистентності до препаратів цієї групи. На сьогодні важко однозначно оцінити ці результати, оскільки широке застосування фторхінолонів у хворих на ХТ сприяє подовженню їх життя, але одночасно і поширенню в навколишньому середовищі резистентних до фторхінолонів МБТ, що призведе до підвищення первинної резистентності МБТ до цих препаратів у найближчі 2–3 роки.

Загальмувати цей процес можна за умови дотримання основного принципу хіміотерапії —

Таблиця 3

Частота резистентності до фторхінолонів залежно від кількості застосованих протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ були чутливі

Кількість протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ чутливі	Кількість хворих	Кількість штамів, що резистентні до фторхінолонів	
		Абс. число	%
1	3	3	100*
2	7	4	57,1*
3	10	3	30#*
Більше 3	16	0	0

* значення показника вірогідно відрізняється від такого у хворих, які отримували більше 3 протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ були чутливі;
# значення показника вірогідно відрізняється від такого у хворих, які отримували 1 протитуберкульозний препарат, до якого МБТ були чутливі.

призначати не менше 3 протитуберкульозних препаратів (а краще більше 3), до яких МБТ чутливі, щоб запобігти селекції резистентних мутантів. Враховуючи обмежений спектр резервних протитуберкульозних препаратів (фторхінолони, амоксицилін/клавуланова кислота, макроліди, циклосерин, тіоацетазон, натрію парааміносаліцилат, капреоміцин), це непросте завдання для лікарів, оскільки більшість резервних ліків хворі мають придбати за власний кошт. Лікарі повинні усвідомлювати всю міру відповідальності перед суспільством, призначаючи монотерапію фторхінолонами хворим на ХТ.

Отже, можна зробити такі висновки:

Існують випадки первинної резистентності МБТ до фторхінолонів.

Частота вторинної резистентності МБТ до фторхінолонів висока — 25%.

Вторинна резистентність МБТ до фторхінолонів розвивається повільними темпами у середньому через 8,3±1,6 міс їх застосування переважно у хворих, яких лікували із застосуванням тільки 1–2 протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ чутливі.

Випадків вторинної резистентності МБТ до фторхінолонів у хворих, яких лікували з використанням більше 3 протитуберкульозних препаратів, до яких МБТ були чутливі, не виявлено.

Результати лікування хворих з мультирезистентними МБТ, у яких розвинулась резистентність МБТ до фторхінолонів, низькі — припинення бактеріовиділення досягнуто у 22,2% з них.

ЛіТЕРАТУРА

1. *Cole S.T.* (1994) Mycobacterium tuberculosis: drug-resistance mechanisms. Trends Microbiol., 2: 411–415.
2. *Grosset J.* (1980) Bacteriological basis of short course chemotherapy for tuberculosis. Clin.Chest Med., 1: 231–242.
3. *Корнеев А.А., Голишевская В,И,, Свастьянова Э.Г., Пузанов В.А.* (1999) Биологические свойства лабораторных штаммов и клинических изолятов микобактерий, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам. Пробл. туберкулеза, 2: 44–48.
4. *Mitchison D.A.* (1992) The Garrod Lecture. Understanding the chemotherapy of tuberculosis current problems. J. Antimicrob. Chemother., 29: 477–493.
5. American College of Chest Physicians and the American Thoracic Society: Consensus Conference (1995) Institutional control measures for tuberculosis in the era of multiple drug resistance. Chest Dis., 108(6): 1690 – 1710.
6. *Davies S., Sparham P.D., Spencer R.C. et al.* (1987) Comparative *in vitro* activity of five fluroquinolones against mycobacteria. J. Antimicrob. Chemother., 19: 611–615.
7. *Падейская Е.Н., Яковлев В.П.* (1996) Фторхинолоны. Биоинформ, Москва, 208 с.
8. *Rosentiel N., Adam D.* (1994) Quinolone antibacterials. An update of therpharmacology and therapeutic use. Drugs, 47: 872–901.