

ДІАГНОСТИКА СТІЙКОСТІ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ ДО ФТОРХІНОЛОНІВ

О.К. Асмолов, Н.А. Левицька, В.В. Ніколаєвський, Ю.І. Бажора

Одеський державний медичний університет

Резюме. Наведені результати дослідження рівня стійкості до ципрофлоксацину та левофлоксацину штамів мікобактерій туберкульозу (МБТ), що були виділені від хворих на туберкульоз у Миколаївському протитуберкульозному диспансері протягом 2003 р. Визначено, що рівень стійкості до фторхінолонів як штамів МБТ, що виділені від хворих, які ніколи не лікувалися від туберкульозу, так і штамів МБТ, виділених від хворих на хронічний туберкульоз, є досить низьким — від 1,3% до 3,6%. Виявлено, що значна кількість штамів МБТ, які резистентні до фторхінолонів, є також нечутливими до більшості протитуберкульозних препаратів I–II ряду. Зроблено висновок про необхідність впровадження системи тестування стійкості МБТ до фторхінолонів.

Ключові слова: мікобактерії туберкульозу, фторхінолони, медикаментозна стійкість.

ДІАГНОСТИКА УСТОЙЧИВОСТІ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЕЗА К ФТОРХІНОЛОНАМ

А.К. Асмолов, Н.А. Левицька,
В.В. Николаевский, Ю.И. Бажора

Резюме. Приведенные результаты исследования уровня резистентности к ципрофлоксацину и левофлоксацину штаммов микобактерий туберкулеза (МБТ), выделенных от больных туберкулезом в Николаевском областном противотуберкулезном диспансере в течение 2003 г. Установлено, что уровень резистентности как штаммов МБТ, выделенных от больных, никогда не получавших противотуберкулезную терапию, так и штаммов МБТ, выделенных от больных хроническим туберкулезом, являются весьма низкими — от 1,3% до 3,6%. Подавляющее большинство штаммов МБТ, устойчивых к фторхинолонам, является также резистентным к большинству противотуберкулезных препаратов I–II ряда. Сделан вывод о необходимости внедрения системы тестирования резистентности МБТ к фторхинолонам.

Ключевые слова: микобактерии туберкулеза, фторхинолоны, лекарственная устойчивость.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS SUSCEPTIBILITY TESTING TO FLUOROQUINOLONES

O.K. Asmolov, N.A. Levitska,
V.V. Nikolayevskyy, Yu.I. Bazhora

Resume. Ciprofloxacin and levofloxacin resistance rates in *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated from patients of Nikolaev regional TB dispensary over a 2003 year reported in this article. Both primary and acquired fluoroquinolone resistance rates were found to be quite low — 1,3% to 3,6%. Majority of fluoroquinolone resistant strains were reported to be resistant to most I–II line antituberculosis drugs. Necessity of a rapid implementation of a system of fluoroquinolone resistance surveillance is demonstrated.

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

Адреса для листування:

Асмолов Олександр Костянтинович
65100, Одеса, пров. Валівський, 2
Одеський державний медичний університет

ВСТУП

Проблеми антимікробної терапії хворих на туберкульоз та мікобактеріоз в останні роки привертає особливу увагу клініцистів. У першу чергу це пов'язано із значним зростанням чисельності резистентних та мультирезистентних штамів мікобактерій, а також з поширенням епідемії ВІЛ-інфекції у нашій державі [1, 2]. Результати сучасних досліджень наглядно демонструють постійне зменшення кількості чутливих та монорезистентних штамів мікобактерій та, навпаки, зростання частки штамів мікобактерій, які нечутливі до трьох або більшої кількості антимікобактеріальних препаратів [3–5].

У зв'язку з цим увагу фармакологів та клініцистів привертають інші препарати з антимікобактеріальною активністю, зокрема

фторхінолони, які на сьогодні, активно застосовують як антимікробні препарати широкого спектра дії. Інтерес до фторхінолонів зумовлений, в першу чергу, особливостями механізму їх антибактеріальної дії, який принципово відрізняється від інших антимікобактеріальних препаратів, завдяки чому перехресна стійкість до фторхінолонів та протитуберкульозних препаратів I ряду відсутня [6]. Як відомо, фторхінолони спричиняють порушення суперспіралізації ДНК мікроорганізмів за рахунок інгібування активності фермента ДНК-топоізомерази II типу — ДНК-гірази [7].

Серед фторхінолонів найвищу активність у відношенні до мікобактерій *in vivo* мають спарфлоксацин, гатіфлоксацин, моксифлоксацин та левофлоксацин, мінімальна пригнічуюча концентрація (МПК) яких складає від 0,12 до 1,0 мкг/мл

[8]. Дещо вищою (від 0,5 до 4,0 мкг/мл) є МПК у відношенні до мікобактерій ципрофлоксацину, ломефлоксацину та офлоксацину, які більш широко застосовують в Україні. Доведена здатність фторхінолонів проникати у макрофаги людини і створювати в них високу концентрацію [8]. На сьогодні накопичені певні дані про успішне застосування фторхінолонів в терапії хворих на мікобактеріоз, мульти- та полірезистентний туберкульоз, вони входять до офіційно рекомендованих в Україні режимів хіміотерапії пацієнтів з мультирезистентним туберкульозом [6, 8–11].

На жаль, майже відсутні дані щодо розповсюдженості стійких до фторхінолонів штамів мікобактерій як в закордонних країнах, так і в Україні. Звичайно штами *M. tuberculosis* (МБТ), що виділені від пацієнтів, не тестують на стійкість до фторхінолонів. За окремими оцінками в США рівень стійкості МБТ до ципрофлоксацину складає не більше 2%, причому у 75,8% таких штамів стійкість до фторхінолонів поєднується з мультирезистентністю [12]. Між тим, дані літератури свідчать про можливість швидкого розвитку стійкості МБТ до фторхінолонів у хворих на туберкульоз, та, що особливо насторожує, у пацієнтів з імунodefіцитом [8]. Поширення епідемії ВІЛ/СНІДу в Україні та зростання кількості стійких до антимікобактеріальних препаратів штамів МБТ зумовлюють необхідність вивчення рівня їх стійкості до фторхінолонів.

Метою дослідження було визначення рівня стійкості до фторхінолонів та перехресної стійкості до препаратів I–II ряду штамів МБТ, що були виділені від хворих на туберкульоз у Миколаївському протитуберкульозному диспансері у 2003 р.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено дослідження 809 штамів МБТ, що були виділені від хворих на різні форми легеневого туберкульозу у лабораторії Миколаївського обласного протитуберкульозного диспансеру протягом другої половини 2003 р.: 280 штамів від хворих на хронічний туберкульоз, 529 штамів від хворих, у яких діагноз туберкульозу встановили вперше.

Обробку матеріалу, отриманого від хворих (головним чином харкотиння), вирощування на щільних поживних середовищах та ідентифікацію ізолятів проводили у відповідності до Наказу № 45 МОЗ України [14].

Дослідження чутливості МБТ до фторхінолонів проводили у відношенні до 2 препаратів — левофлоксацину (фторхінолон III покоління) та ципрофлоксацину (фторхінолон II покоління), а також визначали рівень стійкості виділених штамів МБТ до 9 інших протитуберкульозних препаратів I–II ряду (перехресна резистентність) (табл. 1). Тестування стійкості МБТ до стрептоміцину, ізоніазиду, етамбутолу, етіонаміду, рифампіцину, канаміцину, піразинаміду та ПАСК проводили за допомогою методу абсолютних

Таблиця 1

Концентрація протитуберкульозних препаратів у поживному середовищі, яка була застосована для тестування медикаментозної стійкості виділених штамів МБТ

Препарат	Концентрація препарату, мкг/мл
стрептоміцин	5,0
ізоніазид	1,0
етамбутол	5,0
етіонамід	30,0
рифампіцин	20,0
канаміцин	30,0
піразинамід	5,0
цикloserин	30,0
ПАСК	1,0
ципрофлоксацин	12,5
левофлоксацин	12,5

концентрацій на щільному поживному середовищі Левенштейна-Йенсена у відповідності до Наказу № 45 МОЗ України [13]. Визначення чутливості до ципрофлоксацину, левофлоксацину та цикloserину здійснювали з використанням щільних поживних середовищ фірми «Himedia Laboratories» також за допомогою методу абсолютних концентрацій. Штам МБТ вважали чутливим до відповідного препарату за наявності менш ніж 20 колоній у пробірці з препаратом та ясного росту цього штаму у контрольній пробірці. Остаточну відповідь про чутливість або стійкість штаму МБТ визначали після 4 тиж інкубування у термостаті.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За допомогою бактеріологічних тестів усі виділені ізоляти були ідентифіковані як МБТ. Результати визначення чутливості до левофлоксацину та ципрофлоксацину виділених штамів МБТ свідчать про досить низький рівень стійкості штамів МБТ до цих фторхінолонів (табл. 2). Загальна кількість штамів, які були стійкими до одного або двох препаратів, склала 22 (2,7%) від усіх виділених штамів. Майже однаковим (менше 1,5%) в обох групах хворих був рівень резистентності до левофлоксацину і дещо вищим ($p > 0,05$) — до ципрофлоксацину (2,3% від загальної кількості виділених штамів). Різниця у рівнях стійкості до ципрофлоксацину між штамми МБТ, що були виділені від хворих з вперше виявленим туберкульозом, та штамми, які були отримані від хворих, що раніше лікувалися від туберкульозу, виявилася незначною. У 8 (36,4%) штамів МБТ виявили резистентність до обох цих препаратів.

Результати аналізу перехресної резистентності свідчать про те, що значна більшість штамів МБТ, резистентних до фторхінолонів, були також

Таблиця 2

Резистентність до ципрофлоксацину та левофлоксацину виділених штамів МБТ, абс. число (%)

Вид резистентності	Група хворих		
	Хворі, що ніколи не лікувалися від туберкульозу (n=529)	Хворі, що лікувалися від туберкульозу раніше (n=280)	Усі хворі (n=809)
резистентність до ципрофлоксацину	9 (1,7)	10 (3,6)	19 (2,3)
резистентність до левофлоксацину	7 (1,3)	4 (1,4)	11 (1,4)
резистентність до ципрофлоксацину та левофлоксацину	5 (0,9)	3 (1,0)	8 (1,0)

нечутливими до протитуберкульозних препаратів I–II ряду (табл. 3). Більш ніж 90% резистентних до левофлоксацину штамів МБТ були також стійкими до цих препаратів, крім ПАСК. Серед штамів МБТ, резистентних до ципрофлоксацину, найбільш часто перехресну стійкість відмічали до стрептоміцину, ізоніазиду, етамбутолу та піразинаміду (у 84,2% штамів), а також до циклосерину (у 78,9%).

Таким чином, дані наших досліджень свідчать, що у Миколаївській області України на цей час розповсюдженість стійких до фторхінолонів штамів МБТ є досить невисокою і є співставною з такою у США, Канаді та інших країнах [8, 14]. Не виявлено значної різниці між показниками стійкості до фторхінолонів II (ципрофлоксацину) та III (левофлоксацину) покоління. Відсутність різниці між рівнем чутливості штамів МБТ, виділених від різних груп пацієнтів — тих, що ніколи не лікувалися від туберкульозу, а також тих, що вже отримували протитуберкульозну терапію, — свідчить, з одного боку, про відносно повільний розвиток резистентності МБТ до цих препаратів. З іншого боку, очевидно, це підтверджує той факт, що фторхінолони і до цього часу мало застосовують у терапії хворих на туберкульоз, незважаючи на наявні добрі клінічні результати [10]. Однак, необхідно підкреслити, що останнім часом з'явилися повідомлення про дуже швидкий розвиток резистентності МБТ до фторхінолонів, особливо у ВІЛ-інфікованих осіб [8, 14], що зумовлює необхідність впровадження

системи моніторингу чутливості МБТ до цих препаратів.

Отримані нами значно менші рівні стійкості до фторхінолонів у порівнянні з такими препаратів I ряду [4, 5, 9], вказують на перспективність застосування в Україні фторхінолонів у якості протитуберкульозних препаратів. З іншого боку значна більшість резистентних до фторхінолонів штамів МБТ є також нечутливою й до майже усіх протитуберкульозних препаратів I–II ряду. Це явище вже було відмічено у літературі [8, 14], що, на жаль, обмежує можливість застосування фторхінолонів у пацієнтів, які інфіковані мульти- та полірезистентними штамми МБТ.

ВИСНОВКИ

Рівень розповсюдженості стійких до фторхінолонів штамів МБТ у Миколаївській області України є досить низьким, що дозволяє рекомендувати їх для лікування хворих на туберкульоз.

Наявність перехресної стійкості до основних протитуберкульозних препаратів I–II ряду у значної більшості резистентних до фторхінолонів штамів МБТ, а також можливість виникнення стійкості МБТ до фторхінолонів в умовах недосконалої терапії зумовлюють необхідність впровадження системи тестування стійкості збудника туберкульозу до цих препаратів, що особливо стосується його мульти- та полірезистентних штамів.

Таблиця 3

Перехресна резистентність штамів МБТ до фторхінолонів та антимікобактеріальних препаратів I-II ряду, абс. число

Вид резистентності	Препарат, до якого одночасно резистентний штам МБТ								
	стрептоміцин	ізоніазид	етамбутол	піразинамід	етіонамід	рифампіцин	канаміцин	ПАСК	циклосерін
резистентність до левофлоксацину (n=11)	10	10	9	10	9	9	9	6	10
резистентність до ципрофлоксацину (n=19)	16	16	16	16	13	13	14	10	15

ЛІТЕРАТУРА

1. Журило О.А., В'ялих Ж.Е. (2003) Епідеміологічна ситуація в Україні щодо туберкульозу у поєднанні з ВІЛ-інфекцією та СНІДом. Укр. хіміотерапевт. журн., 3–4: 7–11.
2. Феценко Ю.І., Мельник В.М., Кобилянська А.В. (2000) Основні тенденції динаміки статистичних показників з туберкульозу в Україні за останні 10 років. Укр. пульмонол. журн., 4: 5–9.
3. Пухлик Б.М. (1999) Проблема хіміорезистентного туберкулеза и возможности ее решения. Укр. пульмонол. журн., 2: 37–42.
4. Журило О.А., Турченко Л.В., Клименко М.Т. та ін. (2002) Ситуація з мультирезистентного та полірезистентного туберкульозу в м. Києві. Укр. пульмонол. журн., 3: 36–39.
5. Левицька Н.А., Бажора Ю.І., Ніколаєвський В.В., Асмолов О.К. (2003) Медикаментозна резистентність мікобактерій туберкульозу, що були виділені від хворих в Миколаївській області України протягом 2000–2002 рр. Укр. пульмонол. журн., 4: 17–20.
6. Падейская Е.Н. (1997) Офлоксацин в терапии микобактериозов. Антибиотики и химиотерапия, 42(11): 26–31.
7. Lewis R.J., Tsai F.T.F., Wigley D.B. (1996) Molecular mechanism of drug inhibition by DNA gyrase. Bioessays, 18: 661–671.
8. Ginsburg A.S., Grosset J.H., Bishai W.R. (2003) Fluoroquinolones, tuberculosis and resistance. The Lancet Infect. Dis., 3(6): 432–442.
9. Феценко Ю.І., Петренко В.М., Черенько С.О. та ін. (2002) Епідеміологія, діагностика та лікування хіміорезистентного туберкульозу органів дихання. Укр. пульмонол. журн., 4: 5–12.
10. Черенько С.О., Клименко М.Т., В'ялих Ж.Е. (2002) Ефективність ломефлоксацину у лікуванні хворих на мультирезистентний туберкульоз легень. Укр. пульмонол. журн., 4: 38–41.
11. Wing Wai Yew, Chi Kuen Chan, Chi Hung Chau, et al. (2000) Outcomes of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis treated with ofloxacin/levofloxacin containing regimens. Chest, 117: 744–751.
12. Bozeman L., Burman W., Metchock B. et al. (2002) Fluoroquinolone susceptibility among selected *Mycobacterium tuberculosis* isolates from the United States and Canada. Am. J. Resp. Crit. Care Med., 165(Suppl.): A 18.
13. Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002 (2002) «Про затвердження Інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції». Збірник нормативно-директивних документів з охорони здоров'я, 2: 63–111.
14. Ginsburg A.S., Hooper N., Benjamin W.H. et al. (2003) The rapid development of fluoroquinolone resistance in *M. tuberculosis*. N. Engl. J. Med., 349: 1977–1978.