



Пневмококки: взгляд сквозь призму истории



Доктор медицинских наук, профессор Р.С. Козлов

Продолжение. Начало в № 8-10/2010.

Глава 4. Проблемы и механизмы резистентности пневмококков к антимикробным препаратам

Первые описания инфекционных болезней уходят корнями в далекое прошлое. Хорошо известно, что «божественная хромота» египетских фараонов, увековеченная в рисунках в пирамидах, соответствует классическим проявлениям полиомиелита, а описания сепсиса Галеном и Гиппократом являются историческими доказательствами наличия инфекций в Древней Греции, Римской империи и других странах.

Пандемии холеры, чумы, сыпного тифа, туберкулеза, стрептококковых инфекций, гриппа способствовали тому, что средняя продолжительность жизни в Европе и Северной Америке еще в XIX в. не превышала 50 лет. Вероятность преждевременной смерти от инфекционных болезней в то время составляла 40%.

Подсчитано, что только от чумы за период с 1896 по 1948 год на Индийском субконтиненте умерли около 12,5 млн человек. К 1831 г. практически у половины паломников, совершавших хадж в гг. Мекку и Медину, была диагностирована холера, которая по возвращении паломников на родину быстро распространилась по всем континентам.

В начале XIX в. стрептококковый послеродовый сепсис развивался почти у 70% рожениц и в большинстве случаев вследствие отсутствия эффективной терапии приводил к летальному исходу.

Из 655-тысячной армии Наполеона, вторгшейся в Россию в 1812 г., во Францию вернулись только 93 тыс. человек, чему в немалой степени способствовала эпидемия сыпного тифа. Выжившие в этой кампании быстро распространили инфекцию в Европе, результатом чего стали еще около 2 млн смертей, причем только в Германии умерли 250 тыс. человек. Именно поэтому величайшим достижением медицины в XX в. является открытие, создание и внедрение в клиническую практику антимикробных препаратов.

Первым химиотерапевтическими препаратами в клиническую практику внедрил Пауль Эрлих, который использовал мышьяк (сальварсан) для лечения сифилиса. Позднее в 1927 г. Герхард Домагк, исследуя сульфаниламидные компоненты, открыл бриллиантовый красный краситель (красный пронтозил), который был эффективен у мышей при заражении их летальной дозой гемолитических стрептококков. Позднее ему удалось добиться излечения дочери от рецидивирующей стрептококковой инфекции, а более широкое применение этого препарата привело к снижению летальности от послеродового стрептококкового сепсиса в Германии с 20 до 4,7%.

В 1928 г. английский ученый Александр Флеминг описал лизирующее действие субстанции, вырабатываемой лучистым грибом и позднее названной пенициллином, в отношении стафилококка. В 1938 г. группа английских ученых разработала еще один антимикробный препарат – сульфадиазин 693, который обладал активностью и в отношении пневмококков. В 1940 г. Зельман Ваксман выделил гриб, из которого впоследствии был получен первый противотуберкулезный препарат – стрептомицин.

После внедрения технологий синтеза и промышленного производства пенициллина в 1940-е гг. началась «золотая» эра в развитии химиотерапии, сопровождающаяся открытием и созданием новых классов и групп антимикробных препаратов. Их широкое применение наряду с улучшением санитарно-гигиенической ситуации, условий проживания,

питания, широкого внедрения иммунизации привело к значительному снижению летальности от инфекционных заболеваний. Однако эти достижения в настоящее время находятся под серьезной угрозой вследствие появления и распространения антибиотикорезистентных бактерий, причем немалая роль в этом принадлежит именно пневмококкам.

Первый опыт использования химиотерапевтического препарата для лечения пневмококковой пневмонии относится к началу XX в., когда был применен аналог хинина – этилгидрокупреина гидрохлорид (оптохин). Однако уже в 1912 г. были получены данные о развитии устойчивости к этому препарату *in vivo* у мышей [432], а несколько позднее – и у людей [429], что наряду с тяжелыми нежелательными реакциями привело к прекращению использования этого препарата в клинической практике.

Знание генетической основы резистентности играет основную роль в понимании ее появления и распространения. Пневмококки обладают целым рядом биологических особенностей, отличающих их от других микроорганизмов с приобретенной резистентностью. Во-первых, резистентность у пневмококков очень редко обусловлена единичными мутациями или носительством плазмид. Во-вторых, основными источниками генов резистентности для пневмококков являются трансформация (захват и хромосомный обмен свободной ДНК от близкородственных видов) и конъюгативные транспозоны (перенос и генетическое встраивание небольших сегментов ДНК во время бактериального деления). В-третьих, как уже указывалось, пневмококки часто колонизируют носоглотку, которая является источником обмена штаммами между людьми. В-четвертых, нечувствительные штаммы различаются по степени резистентности к тому или иному антимикробному препарату, которая измеряется по значению минимальной подавляющей концентрации (МПК) [133, 575].

В таблице 2 представлены современные критерии разделения пневмококков на 3 категории: чувствительные, умеренно резистентные и резистентные. Подобная классификация имеет клиническое значение. Так, отнесение штамма в категорию «чувствительный» означает, что лечение инфекции, которая вызвана данным микроорганизмом, соответствующим антибиотиком в обычных терапевтических дозах скорее всего будет эффективным; «умеренно резистентный» – лечение инфекции, вызванной этим штаммом, соответствующим антибиотиком может быть эффективным лишь при использовании повышенных доз и/или при локализации инфекции в тех локусах человеческого организма, где антибиотик достигает высоких концентраций в силу его фармакокинетических особенностей; «резистентный» – лечение инфекции, вызванной данным микроорганизмом, соответствующим антибиотиком даже в высоких дозах будет неэффективным [453].

Подобные биологические особенности оказывают прямое воздействие на популяционную динамику резистентности [132, 376]. Вследствие того что резистентность очень редко является результатом единичных мутаций, которые возникают во время репликации бактерий, ее возникновение, например, во время терапии пациента является маловероятным. Инфекции, вызванные антибиотикорезистентными пневмококками (АРП), чаще всего являются следствием приобретения циркулирующих в данной

Таблица 2. Критерии интерпретации результатов определения чувствительности пневмококков к антибиотикам (МПК, мг/л) [453, 608]

Антибиотик	Чувствительный	Умеренно резистентный	Резистентный
Пенициллин (для инвазивных штаммов, вызывающих менингиты)	0,06	–	≥0,12
Пенициллин (для неинвазивных штаммов)	≤2	4	≥8
Амоксициллин	≤2	4	≥8
Амоксициллин/клавуланат	≤2	4	≥8
Цефтриаксон/цефотаксим (для инвазивных штаммов, вызывающих менингиты)	≤0,5	1	≥2
Цефтриаксон/цефотаксим (для неинвазивных штаммов)	≤1	2	≥4
Цефиксим	≤1	2	≥4
Цефтибутен	≤8	16	≥32
Эртапенем	≤1	2	≥4
Эритромицин	≤0,25	0,5	≥1
Азитромицин	≤0,5	1	≥2
Кларитромицин	≤0,25	0,5	≥1
Джозамицин	≤1	2-4	≥8
Мидекамицина ацетат*	≤1	2-4	≥8
Спирамицин*	≤1	2-4	≥8
Клиндамицин	≤0,25	0,5	≥1
Тетрациклин	≤2	4	≥8
Левифлоксацин	≤2	4	≥8
Моксифлоксацин	≤1	2	≥4
Гемифлоксацин	≤0,12	0,25	≥0,5
Хлорамфеникол	≤4	–	≥8
Сульфаметоксазол/триметоприм	≤0,5	1-2	≥4
Ванкомицин	≤1	–	–

*Критерии Французского общества микробиологов CA-SFM, 1996/2003.

Продолжение на стр. 38.

Пневмококки: взгляд сквозь призму истории

Продолжение. Начало на стр. 37.

популяции резистентных штаммов [574]. Кроме того, и пациенты с пневмококковой инфекцией, и бессимптомные носители могут являться источником подобных штаммов. Как результат, снижение частоты пневмококковых инфекций не всегда приводит к автоматическому снижению циркуляции резистентных изолятов в популяции [132].

Об уникальных возможностях пневмококков с точки зрения выработки резистентности к антимикробным препаратам говорит тот факт, что уже в 1945 г. в лабораторных условиях был получен штамм, нечувствительный к пенициллину, а в 1953 г. появилось первое сообщение о пенициллинрезистентном штамме, выделенном на мышинной модели [161].

В 1965 году в г. Бостоне были выделены 2 клинических штамма с МПК пеницилина 0,1 и 0,2 мг/л, однако исследователи не придали должного значения данной находке [362]. В 1967 г. появилось сообщение о выделении пневмококка с МПК пеницилина 0,6 мг/л от пациентки с гипогаммаглобулинемией и бронхоэктазами в Австралии [308]; в 1974 г. — в США с МПК 0,25 мг/л [113], а в 1978 г. — в ЮАР штаммов с высоким уровнем резистентности (МПК 4-8 мг/л) к пенициллину и полирезистентностью (резистентность к 3 и более классам антимикробных препаратов) [237, 361].

Первое сообщение о наличии пенициллинрезистентных пневмококков в СССР было сделано И.Ю. Стуке в 1979 г. [60], а с середины 1980-х гг. стали появляться сообщения о выделении полирезистентных штаммов [41, 61].

Несмотря на то что пенициллинрезистентный штамм впервые был выделен у взрослой пациентки [308], первый полирезистентный пневмококк был изолирован у ребенка [237]. В настоящее время резистентные штаммы встречаются чаще у детей независимо от региона проведения исследования [362]. Причина подобного феномена до конца не ясна, но, вероятно, отражает более широкое использование антибиотиков у детей, частота носительства пневмококков у которых выше, чем у взрослых, что, в свою очередь, обуславливает более высокую вероятность трансформации в носоглотке.

Назначение пенициллинов снижает носительство пневмококков у детей, но часто не приводит к их эрадикации [292, 366], а также способствует колонизации носоглотки резистентными штаммами [366, 530, 556].

В 1980-х гг. был определен механизм резистентности к пенициллину и другим β-лактамам [574], который заключается в изменении мишени действия этого класса антибиотиков — пенициллинсвязывающих белков (ПСБ). Последние являются ферментами, катализирующими важные этапы синтеза пептидогликана [283]. Результатом взаимодействия β-лактамов с ПСБ является формирование ковалентного связанного через активный сериновый центр комплекса. Изменения ПСБ приводят к снижению связывания этого класса антибиотиков, результатом чего является потребность в более высоких концентрациях для подавления активности ПСБ [304].

У пневмококков обнаружено шесть ПСБ, из которых три с высокой молекулярной массой относятся к классу А: RVP1a (79,7 кДа), RVP1b (89,6 кДа), RVP2a (80,8 кДа); два — к классу В: RVP2x (82,3 кДа) и RVP2b (82,3 кДа); один с низкой молекулярной массой: RVP3 (45,2 кДа) [81]. Все указанные ПСБ могут подвергаться изменению и встречаться в виде вариантов с низкой аффинностью к β-лактамам [304].

В то время как селекция β-лактамазрезистентных лабораторных мутантов была осуществлена путем точечных мутаций генов, кодирующих ПСБ [369, 373, 493, 494, 593], резистентность у клинических штаммов явилась следствием генетической трансформации. Такие пневмококки содержат кодирующие ПСБ мозаичные гены, которые образовались вследствие переноса от близкородственных видов с последующей гомологичной рекомбинацией детерминант резистентности [319, 374, 409]. Подобный процесс приводит к замене последовательностей генов, отличающихся примерно на 20% от пенициллинчувствительных штаммов, результатом чего является замена примерно 10% аминокислот [304].

Исследователями было доказано, что источниками этих отличающихся последовательностей являются комменсалы полости рта, в частности *Streptococcus mitis* и *S. oralis* [434]. Также следует отметить, что уровень резистентности этих стрептококков обычно значительно превышает пневмококковый, что свидетельствует о том, что эволюционно именно они первыми приобрели резистентность к β-лактамам [304]. Примером могут служить представители пенициллинрезистентных клонов серотипов 6В и 23F-9V, циркулирующие в Испании, которые соответственно на 12 и 20% отличаются от пенициллинчувствительного штамма и имеют последовательности, сходные с таковыми *S. mitis* (рис. 5) [302].

Низкоаффинные RVP2b и RVP2x обуславливают низкий уровень резистентности [293, 350] и являются первым шагом к развитию высокого уровня резистентности к β-лактамам, что указывает на эссенциальность этих белков [304]. Попытки удаления одного из них в лабораторных условиях были безрезультатными [216].

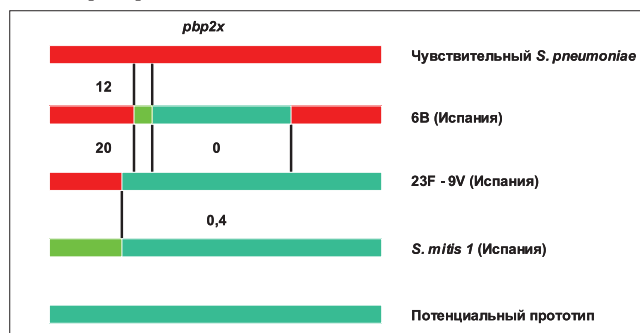


Рис. 5. Эволюция ПСБ пенициллинрезистентных штаммов пневмококков [302]

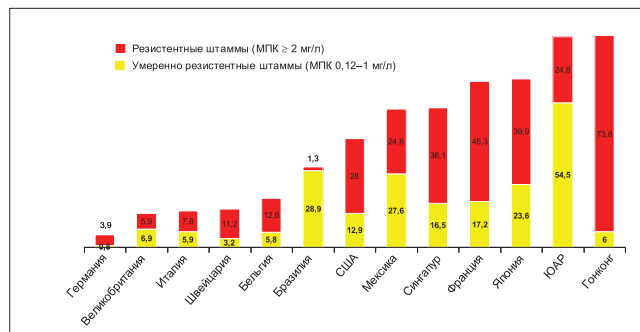


Рис. 6. Процент нечувствительных к пенициллину пневмококков по данным Alexander Project [627]

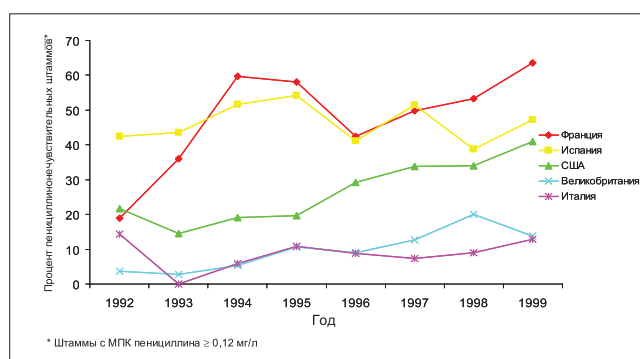


Рис. 7. Динамика распространения нечувствительных к пенициллину пневмококков в различных странах в 1992-1999 гг. по данным Alexander Project [627]

Уникальной особенностью RVP2b является то, что он не взаимодействует с цефалоспорином III поколения, поэтому его изменения не оказывают влияния на резистентность к указанным препаратам [304]. Эта группа β-лактамов не приводит к лизису пневмококков, указывая на тот факт, что подавление активности RVP2b является критически важным для индукции данного феномена [305]. Подтверждением этой гипотезы являются наблюдения о том, что лизис практически полностью подавлен у штаммов с низкой аффинностью RVP2b [293]. На основании приведенных данных можно сделать вывод о том, что, несмотря на 2-кратное увеличение значения МПК для штаммов со сниженной аффинностью RVP2b, биологические последствия данного феномена могут быть более значительными, способствуя выживанию подобных штаммов *in vivo* во время терапии [392, 640, 648]. Клиническим приложением подобной гипотезы является

то, что избыточное применение цефалоспоринов III поколения в регионах с высокой частотой пенициллинрезистентных штаммов может приводить к сравнительно быстрой селекции резистентности к этой группе β-лактамов, что уже нашло отражение в появлении подобных клинических штаммов в США [279, 326].

Низкая аффинность RVP1a или RVP2a приводит к высокому уровню резистентности только при наличии сопутствующей низкой аффинности RVP2x или одновременно RVP2b и RVP2x [419].

Значение низкой аффинности RVP1b в развитии резистентности до настоящего времени окончательно не выяснено [81]. В отличие от RVP2b и RVP2x особенностью RVP2a и RVP1b является возможность получения в лабораторных условиях штаммов с нарушенной функцией генов *rbp2a* и *rbp1b* [216, 303, 446].

RVP3, описанный в качестве детерминанты резистентности только у цефотаксимрезистентного штамма [369], также может быть удален, однако такие пневмококки обладают измененными характеристиками роста. Как и мутанты RVP2a и RVP1b, эти штаммы характеризуются более низкой скоростью роста [576].

Пенициллинрезистентные пневмококки встречаются во всех странах мира (рис. 6), однако их частота варьирует в значительной степени. Начиная с середины 1980-х гг. в Испании и Венгрии была отмечена очень высокая частота пенициллинрезистентности среди клинических штаммов пневмококков (соответственно 52,7 и 57,8%) [259]. Именно эти страны считались «горячими пятнами» пневмококковой резистентности в мире в этот период времени, в то время как в других подобная проблема не возникала до 1990-х гг. Так, например, в США в 1979-1980 гг. частота нечувствительных пневмококков не превышала 4-5%, причем все штаммы были умеренно резистентными [226]. Однако уже в 1990-х гг. из многих стран стали поступать сообщения об увеличивающейся частоте нечувствительных к пенициллину *S. pneumoniae* [113, 133, 362], и к настоящему времени эта проблема приобрела глобальный характер.

Существует множество программ эпидемиологического мониторинга антибиотикорезистентности пневмококков (SENTRY, PROTEKT, TRUST, CROSS, BASKETT и др.), однако для получения сравнимых данных, позволяющих оценить состояние проблемы, используются данные Alexander Project, существующего с начала 1990-х гг. [627].

С учетом представленных выше и ранее опубликованных данных [113, 133] можно выделить наиболее проблематичные с точки зрения распространенности пенициллинрезистентных штаммов регионы/страны:

- в Азии — Гонконг, Япония, Сингапур, Корея, Тайланд, Тайвань;
- в Европе — Испания, Венгрия, Франция, Португалия, Румыния, Болгария, Турция;
- в Африке — ЮАР, Папуа Новая Гвинея;
- в Северной и Южной Америке — Мексика, США (юго-восточные штаты и Аляска), Бразилия.

Наиболее благоприятная ситуация отмечается в Германии, Италии, Великобритании, Нидерландах, Канаде [113, 133].

По отдельным данным российских авторов, частота нечувствительных к пенициллину пневмококков у госпитализированных пациентов с заболеваниями органов дыхания колебалась от 13 до 20% [65], по другим данным — не превышала 5% [62]. Однако, например, в Украине 45,2% пневмококков являлись пенициллинрезистентными [42]. В то же время для понимания эпидемиологической ситуации необходимо знать тенденции антибиотикорезистентности, сравнивая данные, полученные по методологически единой схеме на протяжении нескольких лет, что позволяет оценить динамику резистентности и прогнозировать ее развитие в дальнейшем.

Как видно из представленных на рисунке 7 данных, в большинстве стран отмечается рост резистентности к пенициллину, причем даже в тех, где частота остается на низком уровне (например, в Италии).

Продолжение следует.