



Пневмококки: взгляд сквозь призму истории



Доктор медицинских наук, профессор
Р.С. Козлов

Продолжение. Начало в № 8-10/2010.

Кроме резистентности к пенициллину, в последние годы все большее значение приобретает увеличение числа штаммов со сниженной чувствительностью к цефалоспорином III поколения — препаратам выбора для лечения бактериальных менингитов [273, 346, 363]. Такие пневмококки имеют мутацию как минимум двух ПСБ — RVP1a и RVP2x [279, 468]. Распространенность резистентности существенно варьирует в зависимости от географического расположения. Так, например, в Венгрии частота резистентности к цефалоспорином III поколения составила 1,3% (причем не было штаммов с высоким уровнем резистентности) [97], а в США в 1999-2000 гг. — 24,7% (14,4% высокорезистентных штаммов) [107]. С клинической и микробиологической точки зрения важно помнить, что есть пневмококки, резистентные к цефалоспорином III поколения, но сохранившие чувствительность к пенициллину [214].

Резистентность к карбапенемным антибиотикам, в частности к имипенему, связана с мутациями в RVP2b и RVP2x [383] и может быть достаточно высокой. Так, в Венгрии, например, нечувствительность к имипенему составила 27,7%, а 9,6% штаммов были высокорезистентными [97].

Кроме устойчивости к пенициллину, в последние годы все большую проблему приобретает резистентность пневмококков к другим классам антимикробных препаратов, включая макролиды, тетрациклины, антифолаты, хинолоны, рифамицины, хлорамфеникол и др. [601].

Резистентность к макролидам, в частности к эритромицину, была очень редким явлением в конце 1970-х — начале 1980-х гг., хотя о спорадических случаях выделения таких штаммов ранее сообщалось в США и Австралии [362]. Однако уже в конце 1980-х гг. исследования в ЮАР показали высокую частоту эритромицинрезистентных штаммов в сочетании с полирезистентностью у пневмококков, выделенных у здоровых детей [362].

В настоящее время подобные штаммы встречаются практически повсеместно, однако частота их распространения варьирует в значительной степени [90, 498].

На основании представленных на рисунке 8 данных можно выделить следующие группы стран по частоте встречаемости макролидорезистентных пневмококков:

- страны со сравнительно низкой частотой резистентности — Бразилия, Германия, Великобритания, Швейцария;
- страны с умеренно высокой частотой резистентности — Мексика, ЮАР, Бельгия;

- страны с очень высокой частотой резистентности — США, Сингапур, Франция, Япония, Гонконг.

Данные отдельных исследований в Российской Федерации являются весьма противоречивыми. Так, например, у военнослужащих срочной службы 30% пневмококков были резистентны к эритромицину [57], в других работах частота эритромицинрезистентных штаммов не превышала 5% [62, 65].

Следует отметить, что динамика макролидорезистентности также имеет существенные различия между странами (рис. 9). Большое клиническое значение имеет знание механизмов резистентности к макролидным антибиотикам. Выделяют 3 основных механизма резистентности к макролидам и линкозамидам [377]:

- изменение мишени действия вследствие метилирования или мутации, результатом чего является невозможность связывания антибиотика с рибосомой;

- активный выброс (эффлюкс) антибиотика из бактериальной клетки;
- ферментативная инактивация антибиотика.

В 1956 г. у стафилококков была впервые описана резистентность к эритромицину, механизм которой был связан с метилированием рибосомальной мишени действия антибиотиков, что в конечном итоге приводило к перекрестной резистентности к макролидам, линкозамидам и стрептограминам В (MLS_B-фенотип) [661]. Позднее выяснили, что данный механизм кодируется группой генов erm (erythromycin ribosome methylase — их около 40 в настоящее время), которые встречаются у многих микроорганизмов, включая пневмококки [463]. Синтез протеинов Erm приводит к метилированию аденина в синтезируемой 23S рРНК 50S субъединицы рибосом [661]. Остаток A2058, играющий основную роль в связывании с антибиотиками этой группы, располагается в консервативном регионе домена V 23S рРНК, а результатом его метилирования

У пневмококков резистентность к макролидам, линкозамидам и стрептограминам кодируется генами ermB [377] или, гораздо реже, ermA [325]. Подобный фенотип характеризуется высоким уровнем перекрестной резистентности к макролидам и линкозамидам, причем он часто является индуцибельным [78, 317, 335, 563]. В любом случае, следует отметить, что независимо от типа (индуцибельного или конститутивного) и уровня резистентности in vitro с клинической точки зрения 14-, 15-, 16-членные макролиды и линкозамиды будут являться неэффективными при лечении инфекций, вызванных подобными штаммами [377].

Значение механизма резистентности к макролидам вследствие мутаций в мишени их действия было распознано сравнительно недавно и, по мнению ряда авторов, является существенно недооцененным [377]. Мутации, возникающие в A2058 или A2059 домена V рРНК, следствием чего является резистентность

к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В (MLS_B-фенотип), к макролидам и линкозамидам (ML-фенотип) [656] соответственно, были описаны у клинических и лабораторных штаммов *S. pneumoniae* [649].

Штаммы с мутациями в рибосомальных белках L4 и L22, которые могут приводить к различным фенотипам резистентности (MLS_B или M), также сравнительно недавно были обнаружены у пневмококков [649]. Несмотря на то что подобные мутации по определению являются нетрансферабельными, способность пневмококков к трансформации может приводить к быстрому распространению подобных штаммов среди *S. pneumoniae* [377].

Механизм активного выброса (эффлюкса), кодируемый геном mef (E), который в настоящее время переклассифицирован в mef (A), был описан у клинических штаммов пневмококка в 1997 г. [416]. Белок Mef (A) охватывает мембрану *S. pneumoniae* 12 раз, и его активность обеспечивается за счет энергии протонов [377]. Важной особенностью механизма активного выброса является то, что он обуславливает резистентность к 14- и 15-членным макролидам при сохранении чувствительности к 16-членным, линкозамидам и стрептограмину В (M-фенотип) [377]. Перенос mef (A) генов может быть осуществлен путем конъюгации, а эти гены у пневмококков находятся на большом транспозоне [173].

Также следует помнить о том, что у одного штамма возможно наличие и гена mef (A), и гена erm (B) [581], что приводит к MLS_B-типу резистентности [377].

Следует помнить, что существуют значительные различия между странами и в частоте встречаемости механизмов резистентности к макролидам. Так, например, в США механизм эффлюкса встречается у 70% макролидорезистентных пневмококков [107] по сравнению с 6% в Италии [362]. В то же время метилирование рибосом и эффлюкс встречаются одинаково часто во многих азиатских странах [601].

Для преодоления проблемы MLS_B-типа резистентности у пневмококков долгое время предпринимались попытки создания новых препаратов, которые увенчались успехом в последние годы с появлением комбинации стрептограмин и кетолидов [379].

Пристинамицин и хинупристин/дальфопристин содержат два стрептограмина — А и В, — обладающие

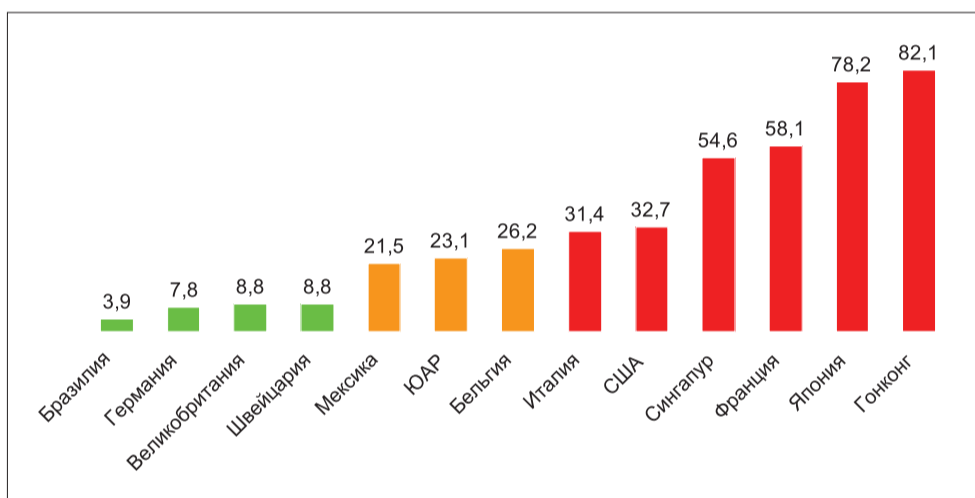


Рис. 8. Распространенность (%) эритромицинрезистентных (МПК ≥ 1 мг/л) пневмококков в различных странах в 2000 г. по данным Alexander Project [627]

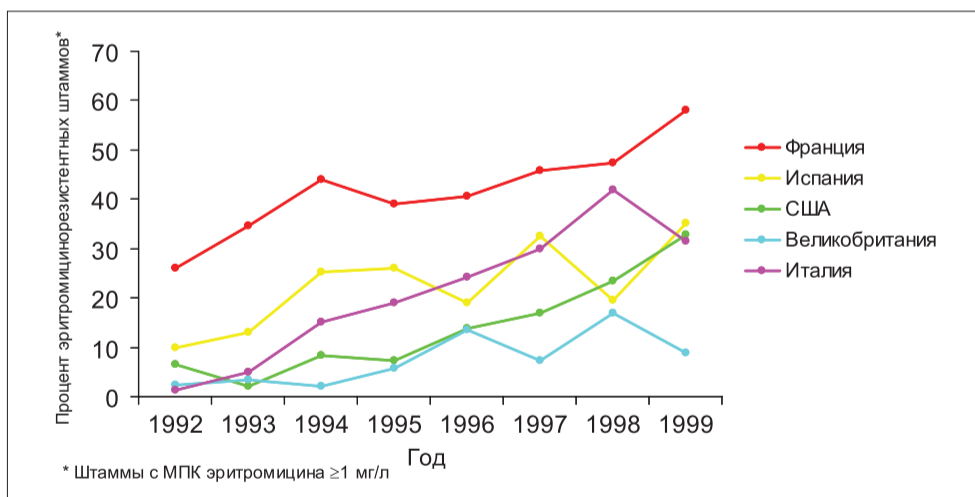


Рис. 9. Динамика распространности эритромицинрезистентных пневмококков в различных странах в 1992-1999 гг. по данным Alexander Project [627]

является нарушение этого процесса. Поскольку макролиды, линкозамиды и стрептограмин В (т. н. MLS_B-группа) имеют перекрывающиеся участки прикрепления на рибосоме, подобные изменения 23S рРНК приводят к перекрестной резистентности ко всем указанным группам [377].

Экспрессия фенотипа MLS_B может быть конститутивной или индуцибельной [377]. При индуцибельном типе бактерии вырабатывают неактивную мРНК, неспособную кодировать метилазу, которая становится активной только в присутствии индуктора. При конститутивном типе активная мРНК вырабатывается и в отсутствие индуктора. Это имеет большое значение, так как при индуцибельном типе штаммы in vitro являются резистентными к сильным индукторам при сохранении чувствительности к слабым [317, 377].

Продолжение на стр. 38.

Пневмококки: взгляд сквозь призму истории

Продолжение. Начало на стр. 37.

синергизмом за счет двойного взаимодействия с рибосомой. Несмотря на то что Egm обуславливает резистентность к стрептограмину В, синергизм сохраняется вследствие механизма действия, который заключается в том, что связывание компонента А приводит к конформационным изменениям рибосомы и повышению ее аффинности к фактору В [142]. Доказательством этой теории служит наличие бактерицидной активности этой комбинации *in vitro* в отношении пневмококков [112].

Кетолиды, как и макролиды, связываются с бактериальной рибосомой, что приводит к нарушению синтеза белка. Несмотря на сходство механизмов действия, ряд исследований показали, что кетолиды обладают активностью в отношении MLS_B-резистентных пневмококков [202, 378]. Это связано с двумя существенными отличиями данного класса антимикробных препаратов от макролидов – характером и силой связывания с рибосомой, а также слабой индукцией макролидорезистентности [78, 229]. Ранее было показано, что макролиды взаимодействуют с 2 участками бактериальной рибосомы, доменами II и V 23S рРНК, причем связывание с доменом II является достаточно слабым [379]. Кетолиды также связываются с этими же доменами, однако сила связывания примерно в 10 раз больше [307].

MLS_B-тип резистентности возникает при нарушении взаимодействия макролидов с доменом V в результате метилирования, однако кетолиды сохраняют свою активность, вероятнее всего, вследствие более сильного связывания с доменом II [379].

Однако только силой связывания нельзя объяснить активность кетолидов в отношении макролидорезистентных пневмококков. Было показано, что, например, телитромицин обладает слабой индуктивной активностью MLS_B-резистентности вследствие замены L-кладинозы в положении С-3 лактонного кольца на кетонную группу [357].

Низкая выработка метилазы в небольшой степени влияет на кетолиды (телитромицин и АВТ-733) вследствие их высокого аффинитета для домена II, однако конститутивная резистентность и высокая концентрация метилазы существенно снижает их активность [78]. В отличие от 14- и 15-членных макролидов кетолиды также являются слабым индуктором и субстратом для протонного насоса MefA, что характеризуется незначительным увеличением МПК, например, телитромицина в отношении подобных штаммов [623].

Тетрациклины активны в отношении многих грамположительных (включая *S. pneumoniae*) и грамотрицательных микроорганизмов [178]. Широкий спектр активности, возможность перорального приема, низкая стоимость привели к тому, что тетрациклин и доксициклин стали широко использоваться для лечения многих бактериальных инфекций [604], однако столь широкое применение имело и негативные последствия в плане развития резистентности у многих микроорганизмов, включая пневмококки. Первое сообщение о тетрациклинорезистентном штамме, выделенном у 10-месячного ребенка с менингитом в Австралии, появилось в 1963 г. [254]. После этого резистентность к указанному классу препаратов стала быстро распространяться, и в настоящее время подобные штаммы выделяются во многих странах мира [666].

Механизм действия тетрациклинов заключается во взаимодействии с А-участком на 30S-субъединице рибосом [240], а при высоком уровне связывания аминокетил-тРНК – и с пептидил-донорским или Р-участком [278], что приводит к снижению аффинности для аминокетил-тРНК А-участка и Р-участка соответственно на 80 [240] и 50% [278]. Конечным итогом данного процесса является нарушение взаимосвязи между аминокетил-тРНК и мРНК, последующей трансляции и синтеза белка [666].

Существует 3 механизма резистентности к тетрациклинам:

- активный выброс (эффлюкс), описанный у грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [386], который кодируется генами tet (A-E), (G), (H), (K), (P) [485, 666];
- защита рибосом, кодируемая генами tet (M), (O), В (P), (Q), Otr A [155, 175, 426, 462, 467];
- ферментативная инактивация, описанная до настоящего времени только у *Bacteroides* spp. [485].

Защита рибосом – единственный из указанных выше механизмов, обнаруженный у пневмококков до

настоящего времени. Доказательством этого стали экспериментальные данные, показавшие, что у чувствительных и резистентных штаммов накопление тетрациклина является идентичным (т. е. отсутствует эффлюкс), а тетрациклин, извлеченный из резистентных клеток, сохраняет свою биологическую активность (т. е. отсутствует инактивация) [155].

Чаще всего у тетрациклинорезистентных штаммов встречается tet (M) ген [156, 666], однако недавно было опубликовано сообщение о пневмококке из ЮАР, несущем ген tet (O) [667]. Необходимо отметить, что гены tet (M) и tet (O) являются близкородственными с гомологией по нуклеотидной и аминокислотной последовательности соответственно около 76 и 77% [467]. Результатом экспрессии обоих генов является образование протеинов с молекулярной массой около 72,5 кДа [410, 667].

Интересным представляется тот факт, что ген tet (M) располагается на двух транспозонах у пневмококков [666]. Tn1545 является конъюгативным транспозоном размером 23 500 пар нуклеотидов, на котором расположены детерминанты резистентности к канамицину и другим структурно сходным аминогликозидам (aphA-3), макролидам, линкозамидам, стрептограмину В (erm (AM) и тетрациклину (tet (M)) [159, 208]. Кроме того, tet (M) ген был обнаружен на конъюгативном транспозоне размером 65 500 пар нуклеотидов, вначале получившим название ω(cat-tet) [657], а в настоящее время называемым Tn5253, который состоит из 2 транспозонов: Tn5251 с геном tet (M) и Tn5252 с геном cat, обуславливающим резистентность к хлорамфениколу [126].

Клиническое значение расположения генов tet (M) и tet (O) на конъюгативных транспозонах очень велико, поскольку свидетельствует о возможном их переносе как минимум в 52 различных видах бактерий [186]. Такой возможный механизм распространения генов резистентности может привести к существенному снижению роли этого класса антибиотиков в терапии инфекций различной этиологии.

В большинстве стран Европы и в США частота тетрациклинорезистентности находится в пределах 22–35% [362], в то время как в азиатских странах представляет большую проблему. Так, по данным Alexander Project и Азиатской сети по надзору за резистентными патогенами (ANSORP), распространенность тетрациклинорезистентных пневмококков составляла 96,3% на Тайване, 85,6% в Гонконге; 80,2–81% в Японии, 77% в Корее; 74,5% в Китае; 59,5% в Таиланде и 53,7% в Шри-Ланке [601, 627].

По данным отдельных исследований в России, частота тетрациклинорезистентных штаммов варьирует от 22 [298] до 43% [592], а в Украине составляет 82,1% [42].

Принимая во внимание увеличение частоты распространения резистентных к β-лактамам, макролидам, линкозамидам, тетрациклинам пневмококков, все большее значение в последние годы приобретают хинолоны [601]. Последние являются синтетическими препаратами, которые берут свое начало от хлорохина. Один из побочных продуктов его производства обладал антибактериальной активностью, что привело к появлению в 1962 г. первого хинолона – налидиксовой кислоты [227]. Этот препарат обладал низкой активностью в отношении грамотрицательных бактерий, субоптимальными фармакокинетическими характеристиками (биодоступностью, сывороточной концентрацией), поэтому использовался только для лечения инфекций мочевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта [609]. Прорывом в развитии данной группы препаратов стало выведение на рынок ципрофлоксацина в 1981 г. [638]. Следующим шагом стало создание препаратов с улучшенными фармакодинамическими (в частности, антипневмококковой активностью) и фармакокинетическими (высокой биодоступностью, возможностью однократного приема) параметрами – левофлоксацина и моксифлоксацина. Возможно, в последующие 5 лет на российском рынке появятся новые хинолоны – гатифлоксацин, гемифлоксацин, гареноксацин.

О популярности этого класса препаратов говорит тот факт, что к 1997 г. объем их продаж достиг 3,04 млрд долларов [199], причем в ближайшие годы очевидна тенденция к увеличению их потребления. Как и для других классов препаратов, рост применения данных антимикробных средств неизбежно привел к развитию резистентности, в том числе и среди пневмококков.

Первые сообщения о пневмококках со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину (МПК ≥4 мг/л) появились в Канаде: их доля увеличилась с 0%

в 1993 г. до 1,7% в 1997 г. [213]. Важной особенностью данного исследования была не только демонстрация появления таких штаммов, но и выявление взаимосвязи между их появлением и применением фторхинолонов (в провинции Онтарио отмечалось самое высокое потребление последних), а также возрастом (в группе ≥65 лет). Пневмококки со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину в этом исследовании принадлежали к различным гено- и серотипам, что указывало на развитие резистентности у различных циркулирующих штаммов под влиянием селективного воздействия антибиотиков [213].

Значительную проблему представляет снижение чувствительности к фторхинолонам в странах Азии. Так, например, в исследовании, проведенном в Гонконге, было обнаружено 12,1% штаммов, резистентных к ципрофлоксацину (МПК ≥4 мг/л), 5,5% – левофлоксацину (МПК ≥4 мг/л) и 2,2% – тровафлоксацину (МПК ≥2 мг/л) [236]. Следует отметить, что в других странах, например в США, несмотря на широкое использование ципрофлоксацина в последние 10 лет, только у 0,3% пневмококков было обнаружено снижение чувствительности к этому антибактериальному препарату (МПК ≥4 мг/л) [93]. Вышеуказанные различия свидетельствуют о необходимости проведения динамического наблюдения за возможным наличием подобных штаммов в каждой стране.

Следует отметить, что резистентность к фторхинолонам может быть обусловлена двумя различными механизмами. Первым является изменение мишеней действия этих препаратов, в частности топоизомеразы II (ДНК-гиразы) и топоизомеразы IV [316]. ДНК-гираза состоит из двух субъединиц – gyrA и gyrB – и является основной мишенью действия фторхинолонов у грамотрицательных бактерий и микобактерий. Топоизомераза IV также состоит из двух субъединиц – parC и parE; ее рассматривают в качестве основной мишени у грамположительных бактерий, включая пневмококки [316]. Важно отметить, что мутации в основной мишени приводят к сравнительно небольшому увеличению МПК для фторхинолонов, а мутации в обеих мишенях – к более высокому уровню резистентности [316].

Показано, что у пневмококков низкий уровень резистентности был вызван мутациями в т. н. регионе, определяющем резистентность к хинолонам (QRDR) субъединиц parC или parE в положении 79 или 83. Для развития высокого уровня резистентности требовались дополнительные мутации в QRDR gyrA и gyrB [484]. Вторым механизмом резистентности к хинолонам является их активный выброс (эффлюкс), который был также обнаружен у пневмококков. Он кодируется геном pmrA, близкородственным гену pmrA у *Staphylococcus aureus* [324]. В последние годы появились сообщения о наличии у пневмококков еще как минимум одного протонного насоса, отличного от PmrA, который также может приводить к эффлюксу фторхинолонов [464].

Различные фторхинолоны отличаются друг от друга не только природной активностью в отношении различных возбудителей, но и потенциалом развития резистентности. Так, считается, что новые хинолоны (левофлоксацин, моксифлоксацин, гемифлоксацин, гатифлоксацин и др.) обладают более низкой способностью к селекции мутантов с двойными мутациями, обуславливающими высокий уровень резистентности [636]. Кроме того, новые хинолоны действуют и на ДНК-гиразу, и на топоизомеразу IV, вследствие чего их активность снижается в меньшей степени под влиянием единичных мутаций в одной из топоизомераз. Было также показано, что эти препараты в меньшей степени подвержены эффлюксу, кодируемому геном pmrA [316]. К тому же новые хинолоны обладают способностью к более быстрой эрадикации бактерий, снижая тем самым вероятность развития резистентности [636].

Все вышесказанное свидетельствует о том, что при определении чувствительности пневмококков в каждом регионе предпочтительным является выбор нескольких препаратов класса хинолонов – как минимум ципрофлоксацина и 1-2 представителей новых хинолонов. Кроме вышеуказанных классов антимикробных препаратов, пневмококки обладают способностью к выработке резистентности к триметоприму, сульфаниламидам, рифампицину, хлорамфениколу [362].

Продолжение следует.